

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

24.12.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2003年11月27日

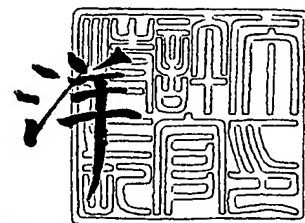
出願番号
Application Number: 特願2003-397551
[ST. 10/C]: [JP2003-397551]

出願人
Applicant(s): 武田薬品工業株式会社

2005年 2月10日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小川



BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願
【整理番号】 B03198
【提出日】 平成15年11月27日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 C12N 15/09
C12Q 1/02
C12Q 1/68
G01N 33/15
G01N 33/53

【発明者】
【住所又は居所】 大阪府豊能郡豊能町新光風台 3 丁目 3 1 - 6
【氏名】 ▲たか▼見 健治

【発明者】
【住所又は居所】 大阪府大阪市淀川区三津屋南 2 丁目 4 - 2 9 - 4 0 2
【氏名】 沢田 啓

【発明者】
【住所又は居所】 大阪府豊中市上新田 1 丁目 2 4 - A - 3 0 7
【氏名】 朝日 知

【特許出願人】
【識別番号】 000002934
【氏名又は名称】 武田薬品工業株式会社

【代理人】
【識別番号】 100114041
【弁理士】
【氏名又は名称】 高橋 秀一

【選任した代理人】
【識別番号】 100106323
【弁理士】
【氏名又は名称】 関口 陽

【手数料の表示】
【予納台帳番号】 005142
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】
【物件名】 特許請求の範囲 1
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1
【物件名】 要約書 1
【包括委任状番号】 9909276
【包括委任状番号】 0203423

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸、及び／又は該塩基配列に相補的な塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸を含有してなる、化合物のリン脂質症誘発ポテンシャル予測用試薬。

【請求項 2】

リン脂質症の発現と相関して発現が変動する遺伝子の転写産物とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸、及び／又は該転写産物に相補的な塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸を含有する 1 もしくは 2 以上の試薬を含んでなる、化合物のリン脂質症誘発ポテンシャル予測用キットであって、2 以上の試薬を含む場合、各試薬は互いに異なる遺伝子の発現を検出し得るものであるキット。

【請求項 3】

少なくとも 1 つの試薬は、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸、及び／又は該塩基配列に相補的な塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸を含有する、請求項 2 記載のキット。

【請求項 4】

哺乳動物細胞を試験化合物に曝露した際の、各試薬中に含有される核酸がハイブリダイズし得る核酸の該細胞内での発現の平均変動率を指標した場合に、リン脂質症誘発ポテンシャルの予測的中率が約 70 % 以上である、請求項 2 記載のキット。

【請求項 5】

化合物のリン脂質症誘発ポテンシャルの予測方法であって、化合物に曝露された哺乳動物細胞含有試料もしくは化合物を投与された哺乳動物より採取した試料における、リン脂質症の発現と相関して発現が変動する 1 以上の遺伝子の発現変動を検出することを含む方法。

【請求項 6】

少なくとも 1 つの遺伝子は、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有するものである、請求項 5 記載の方法。

【請求項 7】

化合物のリン脂質症誘発ポテンシャルの有無を判定するための基準を決定する方法であって、

(1) 2 以上の既知リン脂質症誘発化合物および 2 以上の既知リン脂質症非誘発化合物の各々に曝露された哺乳動物細胞含有試料もしくは該化合物の各々を投与された哺乳動物より採取した試料における、リン脂質症の発現と相関して発現が変動する 1 以上の遺伝子の発現変動を検出し、

(2) 該遺伝子の発現の平均変動率とリン脂質症誘発ポテンシャルとの関係から、上記化合物のリン脂質症誘発ポテンシャルの有無を約 70 % 以上正しく判定することができる平均変動率の値を基準値とすることを含む方法。

【請求項 8】

少なくとも 1 つの遺伝子は、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有するものである、請求項 7 記載の方法。

【請求項 9】

他の既知リン脂質症誘発化合物および既知リン脂質症非誘発化合物を用いて基準値の妥当性を検証することをさらに含む、請求項 7 記載の方法。

【請求項 1 0】

遺伝子の発現の平均変動率を、請求項 7 または 9 記載の方法により得られる基準値と比較することを含む、請求項 5 記載の方法。

【請求項 1 1】

化合物の毒性の予測方法であって、

(1) 化合物に曝露された哺乳動物細胞含有試料もしくは化合物を投与された哺乳動物より採取した試料における、毒性の発現と相関して発現が変動する 1 以上の遺伝子の発現変動を検出し、

(2) 該遺伝子の発現の平均変動率を指標として該化合物の毒性の有無を判定することを含む方法。

【書類名】明細書

【発明の名称】薬物の毒性予測方法

【技術分野】

【0001】

本発明は、薬物の毒性予測方法およびそのためのツールに関する。より詳細には、本発明は、マーカー遺伝子の発現変動を指標とした、医薬候補化合物の毒性（例えば、リン脂質症誘発ポテンシャル等）の予測方法、並びに毒性マーカー遺伝子を検出するための試薬・キット等に関する。

【背景技術】

【0002】

近年、コンビナトリアル・ケミストリーやハイ・スループット・スクリーニングの導入により、創薬研究におけるリード化合物最適化までのボトルネックは、薬効スクリーニングから毒性スクリーニングに移りつつある。従って、かかるボトルネックの解消に寄与し得る効率の良い毒性評価・毒性予測系の確立が強く望まれるところである。

【0003】

現在、医薬品候補化合物の毒性評価は、通常、ラット等の実験動物への化合物投与によるインビボ毒性試験により行われているが、このような試験には、(1)毒性の発現に数日ないし数ヶ月を要する、(2)多量の化合物を必要とする等の欠点がある。特に、化合物の合成量に制限のある開発初期段階において、毒性の有無を迅速に予測し、構造の最適化を効率よく行うには、より少量で多検体を短時間で評価し得るインビトロスクリーニング系の構築が必須である。

【0004】

薬物起因性リン脂質症 (Phospholipidosis; 以下、「PLsis」と略記する場合もある) は細胞内にリン脂質が過剰に蓄積する現象と定義され、抗うつ薬、抗狭心症薬、抗マラリア薬、抗食欲減退薬、抗高脂血症薬などの多くの薬剤もしくはその代謝物によって引き起こされる。PLsisでは、リン脂質は主としてリソソーム内に蓄積し、電子顕微鏡学的には円形ないしは楕円形のエリソーム様構造物 (lamellar body) が観察される。毒性の発現機構は完全には解明されていないが、1) 化合物によるリソソーム酵素 (主にリン脂質分解酵素 (ホスホリパーゼ)) の活性阻害、2) 化合物によるリン脂質代謝に関わる輸送経路の阻害、3) 化合物とリン脂質の複合体形成による複合体の分解阻害、4) 化合物によるリン脂質の合成亢進などに起因するものと考えられている。

【0005】

PLsisを誘発する化合物の多くは、分子内に疎水性領域と陽性荷電した親水性領域とを併せ持つ (cationic amphiphilic drug; CAD) 構造を有する。近年、ゲノム解析の進展に伴いオーファン受容体の創薬ターゲットとしての価値が認識され、受容体に対する作動薬もしくは拮抗薬の開発が進められているが、そのような化合物は、受容体に作用するという性質ゆえにCAD構造を有している場合が多く、PLsisの発現が医薬品開発の妨げとなるケースが増加している。従って、効率の良いPLsis誘発性の評価・予測系の開発が急務である。

【0006】

これに対し、ホスホリパーゼ活性阻害を指標とした評価方法 (非特許文献1) や、肝細胞もしくは培養リンパ球におけるリン脂質の蓄積を蛍光色素を用いて検出する方法 (非特許文献2および3) 等が提唱されているが、いずれも信頼性および/または迅速性などの面で不十分であり、未だ実用的なインビトロスクリーニング系の確立には至っていない。

【0007】

ところで、数千〜数万種のmRNAの発現を同時にモニタリングするマイクロアレイ技術 (網羅的遺伝子発現解析、トランスクリプトミクス (transcriptomics)) が医学・生物学の種々の分野で盛んに利用されてきている。毒性学の分野でも、毒性発現メカニズムの解明や毒性予測の研究に本技術が活用され始めており、トキシコゲノミクス (toxicogenomics) と呼ばれる新たな研究分野として期待されている (非特許文献4)。毒性現象には、

1ないし数個の遺伝子の独立した変化だけでなく、遺伝子間の相互作用やカスケード等のように多数の遺伝子が互いに関連し合った体系的な変動が伴うものと考えられる。そのため、マイクロアレイというトランスクリプトームレベルでの解析が可能な技術を用いることで、毒性発現に関わる分子の挙動を包括的に捉えることが可能になると期待される。例えば、特許文献1および2には、膨大な遺伝子群から選択される2ないし100以上の遺伝子の、試験化合物存在下における発現量を調べ、その結果を、既知陽性および陰性化合物を用いて個々の遺伝子について予め算出された陽性平均および/または陰性平均発現量と比較することにより、試験化合物の肝または腎毒性を予測する手法が開示されている。

【特許文献1】国際公開第02/10453号パンフレット

【特許文献2】国際公開第02/095000号パンフレット

【非特許文献1】松澤 (Matsuzawa, Y.) およびホステトラー (Hostetler, K.Y.)、
「ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー (J. Biol. Chem.)」、(米国)
、第255巻(第2号)、pp. 646-652 (1980年)

【非特許文献2】ガム (Gum, R.J.) ら、「バイオケミカル・ファーマコロジー (Biochem. Pharmacol.)」、(英国)、第62巻、pp. 1661-1673 (2001年)

【非特許文献3】シャー (Xia, Z.) ら、「バイオケミカル・ファーマコロジー (Biochem. Pharmacol.)」、(英国)、第53巻、pp. 1521-1532 (1997年)

【非特許文献4】アーデマ (Aardema, M.J.) およびマッグレガー (MacGregor, J.T.) ら、「ミューテーション・リサーチ (Mutat. Res.)」、(蘭国)、第499巻、pp. 13-25 (2002年)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明の目的は、PLsisの発現と相関して発現が変動する遺伝子、すなわちPLsisマーカー遺伝子を同定し、該遺伝子の発現変動を指標としたハイスループットなPLsis誘発ポテンシャルの予測手段を提供することである。

また、本発明の別の目的は、ある毒性の発現に伴って発現が共通変動する一連の遺伝子群を包括的に把握するとともに、これら遺伝子の網羅的発現解析により得られる情報から、薬物の毒性の有無をより正確に予測し得るように評価系を構築するための最適化方策を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者らは、マイクロアレイを用いて、種々の既知PLsis誘発化合物に曝露したヒト培養細胞における網羅的遺伝子発現解析を行った結果、これら化合物の多くで顕著に発現が変動した遺伝子を同定した。これらの中から機能が重複せず発現変動率が高い12遺伝子を抽出し、リアルタイム定量PCRにより精査した結果、これらの遺伝子は、電子顕微鏡学的観察によるミエリン様構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物の出現程度と相関して発現が変動することが確認された。さらに、本発明者らは、PLsisの発現をこれらマーカー遺伝子の包括的な挙動との関連として捉え、発現の平均変動率という概念を導入することにより、偽陽性および偽陰性の確率が極めて低い、非常に信頼性に優れたPLsis誘発ポテンシャルのインビトロ評価系を構築することに成功して本発明を完成するに至った。

【0010】

すなわち、本発明は、

[1] 配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21および23のいずれかに示される塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸、及び/又は該塩基配列に相補的な塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸を含有してなる、化合物のリン脂質症誘

発ポテンシャル予測用試薬；

〔2〕 リン脂質症の発現と相関して発現が変動する遺伝子の転写産物とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸、及び／又は該転写産物に相補的な塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸を含有する 1 もしくは 2 以上の試薬を含んでなる、化合物のリン脂質症誘発ポテンシャル予測用キットであって、2 以上の試薬を含む場合、各試薬は互いに異なる遺伝子の発現を検出し得るものであるキット；

〔3〕 少なくとも 1 つの試薬は、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸、及び／又は該塩基配列に相補的な塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸を含有する、上記〔2〕記載のキット；

〔4〕 哺乳動物細胞を試験化合物に曝露した際の、各試薬中に含有される核酸がハイブリダイズし得る核酸の該細胞内での発現の平均変動率を指標とした場合に、リン脂質症誘発ポテンシャルの予測的中率が約 70 % 以上である、上記〔2〕記載のキット；

〔5〕 化合物のリン脂質症誘発ポテンシャルの予測方法であって、化合物に曝露された哺乳動物細胞含有試料もしくは化合物を投与された哺乳動物より採取した試料における、リン脂質症の発現と相関して発現が変動する 1 以上の遺伝子の発現変動を検出することを含む方法；

〔6〕 少なくとも 1 つの遺伝子は、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有するものである、上記〔5〕記載の方法；

〔7〕 化合物のリン脂質症誘発ポテンシャルの有無を判定するための基準を決定する方法であって、

(1) 2 以上の既知リン脂質症誘発化合物および 2 以上の既知リン脂質症非誘発化合物の各々に哺乳動物細胞含有試料もしくは該化合物の各々を投与された哺乳動物より採取した試料における、リン脂質症の発現と相関して発現が変動する 1 以上の遺伝子の発現変動を検出し、

(2) 該遺伝子の発現の平均変動率とリン脂質症誘発ポテンシャルとの関係から、上記化合物のリン脂質症誘発ポテンシャルの有無を約 70 % 以上正しく判定することができる平均変動率の値を基準値とすることを含む方法；

〔8〕 少なくとも 1 つの遺伝子は、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有するものである、上記〔7〕記載の方法；

〔9〕 他の既知リン脂質症誘発化合物および既知リン脂質症非誘発化合物を用いて基準値の妥当性を検証することをさらに含む、上記〔7〕記載の方法；

〔10〕 遺伝子の発現の平均変動率を、上記〔7〕または〔9〕記載の方法により得られる基準値と比較することを含む、上記〔5〕記載の方法；

〔11〕 化合物の毒性の予測方法であって、

(1) 化合物に曝露された哺乳動物細胞含有試料もしくは化合物を投与された哺乳動物より採取した試料における、毒性の発現と相関して発現が変動する 1 以上の遺伝子の発現変動を検出し、

(2) 該遺伝子の発現の平均変動率を指標として該化合物の毒性の有無を判定することを含む方法；

などを提供する。

【発明の効果】

【0011】

本発明のPLsisの予測方法は、哺乳動物細胞を化合物に曝露した際のPLsisマーカー遺伝子の発現変動を検出することを特徴とすることにより、従来のインビボ毒性試験や酵素活性や細胞内へのリン脂質等の蓄積を指標とする評価方法に比べて、迅速且つ簡便に多数の

化合物を検査することができるという有利な効果を奏する。

また、本発明の毒性の予測方法は、毒性の発現と相関して発現が共通変動する遺伝子群の平均発現変動率を指標とすることにより、従来の評価方法に比べてより正確に毒性の有無を予測することができるという優れた効果を奏する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0012】

本発明は、PLsisの発現と相関して発現が変動する遺伝子（すなわち、PLsisマーカー遺伝子）の発現を検出し得る核酸を含有するPLsis誘発ポテンシャル予測用試薬を提供する。ここで「PLsis誘発ポテンシャル」とは、化合物が標的哺乳動物細胞と接触した場合に該細胞内にミエリン様構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物を生じさせる能力をいう。従って、インビボ投与でPLsisを誘発する化合物であっても、生体内代謝産物のみがPLsis誘発性である場合はPLsis誘発ポテンシャル陰性であり、一方、生体内で速やかに代謝されて無毒化される化合物であってもそれ自体がPLsis誘発性である場合はPLsis誘発ポテンシャル陽性である。

【0013】

「PLsisの発現と相関して発現が変動する」とは、哺乳動物細胞を種々の化合物に曝露したときに、該化合物が該細胞内にミエリン様構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物を生じさせるものである場合に発現が実質的に増加または減少し、該化合物が該細胞内にミエリン様構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物を生じさせないものである場合には発現が実質的に変動しない、という傾向が統計学上有意に認められることをいう。尚、「実質的に増加または減少」とは、非曝露時の1.5倍以上に増加するか、あるいは非曝露時の2/3以下に減少することをいい、「実質的に変動しない」とは、非曝露時の2/3～1.5倍の発現レベルであることをいう。

【0014】

具体的には、PLsisマーカー遺伝子としては、リソソーム酵素をコードする遺伝子、脂質代謝（例：コレステロール合成、脂肪酸伸長反応、不飽和脂肪酸合成等）関連蛋白質をコードする遺伝子、輸送（例：脂肪酸輸送、蛋白質輸送、アミノ酸輸送等）関連蛋白質をコードする遺伝子、細胞増殖関連蛋白質をコードする遺伝子、プロテアーゼもしくはプロテアーゼインヒビターをコードする遺伝子、アミノ酸代謝関連蛋白質をコードする遺伝子などが挙げられる。より具体的には、本発明により抽出されたPLsisと相関して発現が増加する遺伝子としては、GenBankデータベースに、それぞれNM_014960、NM_000859、AL518627、NM_002130、AA639705、BC005807、AF116616、NM_025225、U47674、D80010、NM_001731、AW134535、NM_004354、AF135266、AC007182、NM_003832、NM_019058、AB040875、AA488687、NM_018687、NM_021158、BG231932、NM_024307、NM_000235、AA873600、D63807、AF096304、AW150953、NM_001360、NM_021969、AC001305、NM_024090、NM_001443、NM_006214、NM_024108、NM_021980、NM_002151、AF003934、NM_000596、U15979、M92934、NM_002087、AK023348、NM_002773、NM_000131、BC003169、NM_002217、NM_003122、NM_001673、NM_000050、NM_001085、U08024、NM_003167、BC005161、AF162690、AW517464、AF116616、NM_017983、AL136653、NM_016061、BE966922、BE552428、NM_022823、NM_012445、NM_000792、NM_015930、NM_021800、NM_005980、NM_000565およびAB033025のIDを付されて登録されている塩基配列を含有するヒト遺伝子および他の哺乳動物におけるそれらのホモログ等が挙げられる。一方、PLsisと相関して発現が減少する遺伝子としては、GenBankデータベースに、それぞれNM_006931、AL110298、NM_006931、NM_001955、NM_003897、NM_003186、AA778684、NM_001283、NM_012242、AI934469、NM_003186およびNM_002450のIDを付されて登録されている塩基配列を有するヒト遺伝子および他の哺乳動物におけるそれらのホモログ等が挙げられる。

【0015】

好ましくは、本発明のPLsisマーカー遺伝子として、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21および23に示される各塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列をそれぞれ有する12種の遺伝子が挙げられる。ここで「実質的に同

一の塩基配列」とは、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21および23に示される各塩基配列の相補鎖配列を有する核酸とそれぞれハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る塩基配列であって、それにコードされる蛋白質が該配列番号に示される塩基配列にコードされる蛋白質と同一もしくは実質的に同一のものであるような配列を意味する。「ハイストリンジェントな条件」とは、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21および23に示される各塩基配列の相補鎖配列を有する核酸と、オーバーラップする領域において約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、特に好ましくは約95%以上の相補性を有する塩基配列を有する核酸とがハイブリダイズし得る条件をいい、例えば、ナトリウム濃度が約19~40mM、好ましくは約19~20mMで、温度が約50~70℃、好ましくは約60~65℃、特に好ましくは、ナトリウム濃度が約19mMで温度が約65℃の場合が挙げられる。当業者は、ハイブリダイゼーション溶液の塩濃度、ハイブリダイゼーション反応の温度、プローブ濃度、プローブの長さ、ミスマッチの数、ハイブリダイゼーション反応の時間、洗浄液の塩濃度、洗浄の温度等を適宜変更することにより、所望のストリンジェンシーに容易に調節することができる。

【0016】

「実質的に同一の蛋白質」とは、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22および24に示される各アミノ酸配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、特に好ましくは約95%以上、最も好ましくは約98%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有し、且つ上記各配列番号2に示されるアミノ酸配列を有する蛋白質と同質の活性を有する蛋白質をいう。「同質の活性」とは、活性が性質的に（例えば、生理学的に、または薬理的に）同一であることをいい、量的には同等（例：0.5~2倍）であることが好ましいが、異なってもよい。また、アミノ酸配列の相同性の条件を満たす限り、分子量などの他の量的要素が異なってもよい。

【0017】

アミノ酸配列について、「相同性」とは、当該技術分野において公知の数学的アルゴリズムを用いて2つのアミノ酸配列をアラインさせた場合の、最適なアラインメント（好ましくは、該アルゴリズムは最適なアラインメントのために配列の一方もしくは両方へのギャップの導入を考慮し得るものである）における、オーバーラップする全アミノ酸残基に対する同一アミノ酸および類似アミノ酸残基の割合（%）を意味する。「類似アミノ酸」とは物理化学的性質において類似したアミノ酸を意味し、例えば、芳香族アミノ酸（Phe、Trp、Tyr）、脂肪族アミノ酸（Ala、Leu、Ile、Val）、極性アミノ酸（Gln、Asn）、塩基性アミノ酸（Lys、Arg、His）、酸性アミノ酸（Glu、Asp）、水酸基を有するアミノ酸（Ser、Thr）、側鎖の小さいアミノ酸（Gly、Ala、Ser、Thr、Met）などの同じグループに分類されるアミノ酸が挙げられる。このような類似アミノ酸による置換は蛋白質の表現型に変化をもたらさない（即ち、保存的アミノ酸置換である）ことが予測される。保存的アミノ酸置換の具体例は当該技術分野で周知であり、種々の文献に記載されている（例えば、Bowieら、Science, 247: 1306-1310 (1990)を参照）。

アミノ酸配列の相同性を決定するためのアルゴリズムとしては、例えば、Karlinら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 5873-5877 (1993)に記載のアルゴリズム [該アルゴリズムはNBLASTおよびXBLASTプログラム (version 2.0) に組み込まれている (Altschulら、Nucleic Acids Res., 25: 3389-3402 (1997))]、Needlemanら、J. Mol. Biol., 48: 444-453 (1970)に記載のアルゴリズム [該アルゴリズムはGCGソフトウェアパッケージ中のGAPプログラムに組み込まれている]、MyersおよびMiller、CABIOS, 4: 11-17 (1988)に記載のアルゴリズム [該アルゴリズムはCGC配列アラインメントソフトウェアパッケージの一部であるALIGNプログラム (version 2.0) に組み込まれている]、Pearsonら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 2444-2448 (1988)に記載のアルゴリズム [該アルゴリズムはGCGソフトウェアパッケージ中のFASTAプログラムに組み込まれている] 等が挙げられるが、それらに限定されない。

より好ましくは、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、2

2 および 24 に示されるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列とは、各配列番号に示されるアミノ酸配列とそれぞれ約 70% 以上、好ましくは約 80% 以上、より好ましくは約 90% 以上の同一性を有するアミノ酸配列である。

【0018】

かかる相同性を有する蛋白質としては、例えば、1) 配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22 または 24 に示されるアミノ酸配列中の 1 または 2 個以上（好ましくは 1～30 個程度、より好ましくは 1～10 個程度、特に好ましくは数（1～5）個）のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、2) 配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22 または 24 に示されるアミノ酸配列に 1 または 2 個以上（好ましくは 1～30 個程度、より好ましくは 1～10 個程度、特に好ましくは数（1～5）個）のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、3) 配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22 または 24 に示されるアミノ酸配列に 1 または 2 個以上（好ましくは 1～30 個程度、より好ましくは 1～10 個程度、特に好ましくは数（1～5）個）のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列、4) 配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22 または 24 に示されるアミノ酸配列中の 1 または 2 個以上（好ましくは 1～30 個程度、より好ましくは 1～10 個程度、特に好ましくは数（1～5）個）のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または 5) それらを組み合わせたアミノ酸配列を含有する蛋白質などが含まれる。

上記のようにアミノ酸配列が挿入、欠失または置換されている場合、その挿入、欠失または置換の位置は特に限定されない。

【0019】

より具体的には、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 に示される各塩基配列と実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子として、各配列番号に示される塩基配列を有する遺伝子のアレル変異体や、該遺伝子の非ヒト哺乳動物（例：サル、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、ウサギ、ハムスター、モルモット、マウス、ラット等）におけるオルソログ（ortholog）などが該当する。

【0020】

本発明のヒト由来PLsisマーカー遺伝子の塩基配列（すなわち、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 に示される塩基配列）はいずれも公知であり、GenBankデータベース上で、それぞれNM_014960、U47674、NM_024307、D63807、NM_021969、NM_001443、NM_002151、NM_001085、AL136653、NM_022823、NM_006931 およびNM_003186の登録番号を付されて公開されている。

【0021】

配列番号 1 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「kiaa1001」と略記する場合がある）は、スルファターゼファミリーに属するリソソーム酵素、KIAA1001蛋白質をコードしている。

配列番号 3 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「asah1」と略記する場合がある）は、セラミド代謝に関与するリソソーム酵素であり、ヒトにおいてはその欠損によりファバー病（セラミド蓄積症）を生じるN-アシルスフィンゴシン アミドヒドロラーゼ（酸性セラミダーゼ）1 をコードしている。

配列番号 5 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「mgc4171」と略記する場合がある）は、リン脂質の分解に関与するグリセロホスホリルジエステル ホスホジエステラーゼファミリーに属するMGC4171蛋白質をコードしている。

配列番号 7 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「lss」と略記する場合がある）は、コレステロール合成に関与するラノステロールシンターゼをコードしている。

配列番号 9 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「nr0b2」と略記する場合がある）は、コレステロール 7 α -ヒドロキシラーゼ（CYP7A1）の発現調節に関わる核内受容体蛋白質（サブファミリー 0、グループ b、メン

バー 2) をコードしている。

配列番号 11 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子 (以下、「fabp1」と略記する場合がある) は、脂質輸送に關与する肝脂肪酸結合蛋白質 1 をコードしている。

上記 6 つの遺伝子は、一般的に PLsis 誘発との關連性が示唆され得るリソソーム酵素および脂質代謝關連蛋白質をコードしているが、これら個々の遺伝子の発現が薬物の PLsis 誘発ポテンシャルと実際に關關することについてはこれまで報告されていない。

【0022】

配列番号 13 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子 (以下、「hpn」と略記する場合がある) は、膜貫通型セリンプロテアーゼであるヘプシンをコードしている。

配列番号 15 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子 (以下、「serpina3」と略記する場合がある) は、セリン (システイン) プロテアーゼインヒビター (クレード A, メンバー 3) をコードしている。

配列番号 17 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子 (以下、「depp」と略記する場合がある) は、プロゲステロンにより誘導される脱落膜由来蛋白質をコードしている。

配列番号 19 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子 (以下、「flj22362」と略記する場合がある) は、フィブロネクチン タイプ III とホモロジーの高い蛋白質 (FLJ22362) をコードしている。

配列番号 21 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子 (以下、「slc2a3」と略記する場合がある) は、グルコース輸送担体である溶質キャリアファミリーに属する蛋白質 (ファミリー 2, メンバー 3) をコードしている。

配列番号 23 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子 (以下、「tagln」と略記する場合がある) は、細胞骨格蛋白質であるトランスゲリンをコードしている。

これら 6 つの遺伝子にコードされる蛋白質は、一般的にも PLsis 誘発との關連性が全く知られていない。

【0023】

配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17 および 19 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子は、PLsis 発現と關關して発現が増加し、一方、配列番号 21 および 23 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子は、PLsis 発現と關關して発現が減少する。

【0024】

本發明の PLsis 誘発ポテンシャル予測用試薬 (以下、「本發明の試薬」と略記する場合がある) に含有される PLsis マーカー遺伝子の発現を検出し得る核酸としては、例えば、PLsis マーカー遺伝子の転写産物とハイブリダイズし得る核酸 (プローブ) や、該転写産物の一部もしくは全部を増幅するプライマーとして機能し得るオリゴヌクレオチドのセットなどが挙げられる。すなわち、該核酸としては、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列を有する核酸 (センス鎖=コード鎖) とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸、及び/又は該塩基配列に相補的な塩基配列を有する核酸 (アンチセンス鎖=非コード鎖) とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸が好ましく例示される。「ハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る」とは上記と同義である。該核酸は DNA であっても RNA であってもよく、あるいは DNA/RNA キメラであってもよい。好ましくは DNA が挙げられる。

【0025】

プローブとして用いられる核酸は、二本鎖であっても一本鎖であってもよい。二本鎖の場合は、二本鎖 DNA、二本鎖 RNA または DNA:RNA のハイブリッドでもよい。一本鎖の場合は、供される試料に応じてセンス鎖 (例: cDNA、cRNA の場合) または

アンチセンス鎖（例：mRNA、cDNAの場合）を選択して用いることができる。該核酸の長さは標的核酸と特異的にハイブリダイズし得る限り特に制限はなく、例えば約15塩基以上、好ましくは約30塩基以上である。該核酸は、標的核酸の検出・定量を可能とするために、標識剤により標識されていることが好ましい。標識剤としては、例えば、放射性同位元素、酵素、蛍光物質、発光物質などが用いられる。放射性同位元素としては、例えば、 $[^{32}\text{P}]$ 、 $[^3\text{H}]$ 、 $[^{14}\text{C}]$ などが用いられる。酵素としては、安定で比活性の大きなものが好ましく、例えば、 β -ガラクトシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、パーオキシダーゼ、リンゴ酸脱水素酵素などが用いられる。蛍光物質としては、例えば、フルオレスカミン、フルオレッセンインソチオシアネートなどが用いられる。発光物質としては、例えば、ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、ルシゲニンなどが用いられる。さらに、プローブと標識剤との結合にビオチン（ストレプト）アビジンを用いることもできる。一方、プローブとなる核酸を固相上に固定化する場合には、試料中の核酸を上記と同様の標識剤を用いて標識することができる。

【0026】

プライマーとして用いられるオリゴヌクレオチドのセットとしては、各配列番号に示される塩基配列（センス鎖）およびそれに相補的な塩基配列（アンチセンス鎖）とそれぞれ特異的にハイブリダイズすることができ、それらに挟まれるDNA断片を増幅し得るものであれば特に制限はなく、例えば、各々約15～約100塩基、好ましくは各々約15～約50塩基の長さを有し、約100bp～数kbpのDNA断片を増幅するようにデザインされたオリゴDNAのセットが挙げられる。

【0027】

微量RNA試料を用いてPLsisマーカー遺伝子の発現を定量的に解析するためには、競合RT-PCRまたはリアルタイムRT-PCRを用いることが好ましい。競合RT-PCRとは、目的のDNAを増幅し得るプライマーのセットにより増幅され得る既知量の他の鋳型核酸をcompetitorとして反応液中に共存させて競合的に増幅反応を起こさせ、増幅産物の量を比較することにより、目的DNAの量を算出する方法をいう。従って、競合RT-PCRを用いる場合、本発明の試薬は、上記プライマーセットに加えて、該プライマーセットにより増幅され、目的DNAと区別することができる増幅産物（例えば、目的のDNAとはサイズの異なる増幅産物、制限酵素処理により異なる泳動パターンを示す増幅産物など）を生じる核酸をさらに含有することができる。このcompetitor核酸はDNAであってもRNAであってもよい。DNAの場合、RNA試料から逆転写反応によりcDNAを合成した後にcompetitorを添加してPCRを行えばよく、RNAの場合は、RNA試料に最初から添加してRT-PCRを行うことができる。後者の場合、逆転写反応の効率も考慮に入れているので、元のmRNAの絶対量を推定することができる。

一方、リアルタイムRT-PCRは、PCRの増幅量をリアルタイムでモニタリングできるので、電気泳動が不要で、より迅速にPLsisマーカー遺伝子の発現を解析可能である。通常、モニタリングは種々の蛍光試薬を用いて行われる。これらの中には、SYBR Green I、エチジウムブロマイド等の二本鎖DNAに結合することにより蛍光を発する試薬（インターカレーター）の他、上記プローブとして用いることができる核酸（但し、該核酸は増幅領域内で標的核酸にハイブリダイズする）の両端をそれぞれ蛍光物質（例：FAM、HEX、TET、FITC等）および消光物質（例：TAMRA、DABCYL等）で修飾したもの等が含まれる。

【0028】

PLsisマーカー遺伝子の発現を検出し得るプローブとして機能する核酸は、該遺伝子の転写産物の一部もしくは全部を増幅し得る上記プライマーセットを用い、哺乳動物（例：ヒト、サル、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、ウサギ、ハムスター、モルモット、マウス、ラット等）のあらゆる細胞〔例えば、肝細胞、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、脾臓 β 細胞、骨髄細胞、メサングウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、杯細胞、内皮細胞、平滑筋細胞、繊維芽細胞、繊維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞（例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、単球）、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨

細胞、乳腺細胞、肝細胞もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞など] もしくはそれらの細胞が存在するあらゆる組織 [例えば、脳、脳の各部位 (例、嗅球、扁桃核、大脳基底核、海馬、視床、視床下部、大脳皮質、延髄、小脳)、脊髄、下垂体、胃、脾臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆嚢、骨髄、副腎、皮膚、肺、消化管 (例、大腸、小腸)、血管、心臓、胸腺、脾臓、顎下腺、末梢血、前立腺、睾丸、卵巣、胎盤、子宮、骨、関節、脂肪組織、骨格筋など] 由来の cDNA もしくはゲノム DNA を鋳型として PCR 法によって所望の長さの核酸を増幅するか、前記した細胞・組織由来の cDNA もしくはゲノム DNA ライブラリーから、コロニーもしくはブランクハイブリダイゼーション等により上記 PLsis マーカー遺伝子もしくは cDNA をクローニングし、必要に応じて制限酵素等を用いて適当な長さの断片とすることにより取得することができる。ハイブリダイゼーションは、例えば、モレキュラー・クローニング (Molecular Cloning) 第 2 版 (前述) に記載の方法などに従って行なうことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、ハイブリダイゼーションは、該ライブラリーに添付された使用説明書に記載の方法に従って行なうことができる。あるいは、該核酸は、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 に示される各塩基配列情報に基づいて、該塩基配列および/またはその相補鎖配列の一部もしくは全部を市販の DNA/RNA 自動合成機等を用いて化学的に合成することによっても得ることができる。また、シリコンやガラス等の固相上で該核酸を直接 in situ (on chip) 合成することにより、該核酸が固相化されたチップを作成することもできる。

【0029】

PLsis マーカー遺伝子の転写産物の一部もしくは全部を増幅し得るプライマーとして機能する核酸は、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 に示される各塩基配列情報に基づいて、該塩基配列およびその相補鎖配列の一部を市販の DNA/RNA 自動合成機等を用いて化学的に合成することによって得ることができる。

【0030】

PLsis マーカー遺伝子の発現を検出し得る核酸は、乾燥した状態もしくはアルコール沈澱の状態、固体として提供することもできるし、水もしくは適当な緩衝液 (例: TE 緩衝液等) 中に溶解した状態で提供することもできる。標識プローブとして用いられる場合、該核酸は予め上記のいずれかの標識物質で標識した状態で提供することもできるし、標識物質とそれぞれ別個に提供され、用時標識して用いることもできる。

あるいは、該核酸は、適当な固相に固定化された状態で提供することもできる。固相としては、例えば、ガラス、シリコン、プラスチック、ニトロセルロース、ナイロン、ポリビニリデンジフッライド等が挙げられるが、これらに限定されない。また、固定化手段としては、予め核酸にアミノ基、アルデヒド基、SH 基、ビオチンなどの官能基を導入しておき、一方、固相上にも該核酸と反応し得る官能基 (例: アルデヒド基、アミノ基、SH 基、ストレプトアビジンなど) を導入し、両官能基間の共有結合で固相と核酸を架橋したり、ポリアニオン性の核酸に対して、固相をポリカチオンコーティングして静電結合を利用して核酸を固定化するなどの方法が挙げられるが、これらに限定されない。

核酸プローブが固相に固定化された状態で提供される好ましい一例として、High Throughput Genomics 社より提供される ArrayPlate™ 等が挙げられる。ArrayPlate™ は 96 ウェルプレートの各ウェル底面に種々の核酸プローブが規則正しく配置した状態 (例、4×4 アレイ) で固定化されたものである。プローブとハイブリダイズし得る一端と標的核酸とハイブリダイズし得る他端とを有する核酸をスペーサーとして介在させることで、プローブと標的核酸とのハイブリダイゼーション反応を固相表面上ではなく液相中で行わせることができ、標的核酸の定量的な測定が可能となる。従って、単一のウェルで種々の PLsis マーカー遺伝子の発現変動を同時に一括検出することができ、十分な定量性が得られれば、各マーカー遺伝子の発現変動を別個に検出するリアルタイム PCR よりもさらに効率がよいという利点を有する。

【0031】

本発明の試薬に関し、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子を検出し得る核酸を含有する場合を強調して説明してきたが、本発明の試薬は、上記 12 個の PLsis マーカー遺伝子以外の PLsis マーカー遺伝子、例えば、リソソーム酵素をコードする遺伝子、脂質代謝（例：コレステロール合成、脂肪酸伸長反応、不飽和脂肪酸合成等）関連蛋白質をコードする遺伝子、輸送（例：脂肪酸輸送、蛋白質輸送、アミノ酸輸送等）関連蛋白質をコードする遺伝子、細胞増殖関連蛋白質をコードする遺伝子、プロテアーゼもしくはプロテアーゼインヒビターをコードする遺伝子、アミノ酸代謝関連蛋白質をコードする遺伝子など、より具体的には、GenBank データベースに、それぞれ NM_000859、AL518627、NM_002130、AA639705、BC005807、AF116616、NM_025225、D80010、NM_001731、AW134535、NM_004354、AF135266、AC007182、NM_003832、NM_019058、AB040875、AA488687、NM_018687、NM_021158、BG231932、NM_000235、AA873600、AF096304、AW150953、NM_001360、AC001305、NM_024090、NM_006214、NM_024108、NM_021980、AF003934、NM_000596、U15979、M92934、NM_002087、AK023348、NM_002773、NM_000131、BC003169、NM_002217、NM_003122、NM_001673、NM_000050、U08024、NM_003167、BC005161、AF162690、AW517464、AF116616、NM_017983、NM_016061、BE966922、BE552428、NM_012445、NM_000792、NM_015930、NM_021800、NM_005980、NM_000565、AB033025、AL110298、NM_006931、NM_001955、NM_003897、AA778684、NM_001283、NM_012242、AI934469、NM_003186 および NM_002450 の ID を付されて登録されている塩基配列を有するヒト遺伝子および他の哺乳動物におけるそれらのホモログ等を検出し得る核酸を含有するものであってもよい。

【0032】

本発明の試薬は、PLsis マーカー遺伝子の発現を検出し得る核酸に加えて、該遺伝子の発現を検出するための反応において必要な他の物質であって、共存状態で保存することにより反応に悪影響を及ぼさない物質をさらに含有することができる。あるいは、本発明の試薬は、PLsis マーカー遺伝子の発現を検出するための反応において必要な他の物質を含有する別個の試薬とともにキット化して提供することもできる。例えば、PLsis マーカー遺伝子の発現を検出するための反応が PCR の場合、当該他の物質としては、例えば、反応緩衝液、dNTPs、耐熱性 DNA ポリメラーゼ等が挙げられる。競合 PCR やリアルタイム PCR を用いる場合は、competitor 核酸や蛍光試薬（上記インターカレーターや蛍光プローブ等）などをさらに含むことができる。

【0033】

個々の PLsis マーカー遺伝子は、すべての PLsis 誘発化合物について発現が変動し、すべての PLsis 非誘発化合物について実質的に発現が変動しないというものではない。そのため、個々のマーカー遺伝子の発現を単独の指標とした場合、ある程度の偽陽性および偽陰性化合物の出現は避けられない。しかしながら、複数の PLsis マーカー遺伝子の発現変動を調べることにより、予測的中率をさらに向上させることができる。

したがって、本発明はまた、PLsis マーカー遺伝子を検出し得る核酸を含有する 2 以上の試薬を組み合わせる、薬物の PLsis 誘発ポテンシャル予測用キットを提供する。ここで各試薬中に含有される核酸は、互いに異なる PLsis マーカー遺伝子を検出し得るものである。検出対象となる PLsis マーカー遺伝子は特に制限はなく、上記した通りのものが同様に例示されるが、好ましくは、該試薬の少なくとも 1 つは、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子を検出し得る核酸を含有するものである。より好ましくは、上記 12 個の PLsis マーカー遺伝子のうちのいずれか 2 個以上、さらに好ましくは 3 個以上、いっそう好ましくは 4 個以上、特に好ましくは 5 個以上、最も好ましくは 6 個以上を検出対象とするキットが挙げられる。

キットを構成する各試薬中に含有される核酸は、同一の方法（例：ノーザンブロット、ドットブロット、DNA アレイ技術、定量 RT-PCR 等）により PLsis マーカー遺伝子の発現を検出し得るように構築されていることが特に好ましい。

【0034】

あるいは、好適なマーカー遺伝子の組み合わせとして、哺乳動物細胞を試験化合物に曝露した際の発現の平均変動率（後記PLsis誘発ポテンシャル予測方法の説明において詳述する）を指標とした場合に、PLsis誘発ポテンシャルの予測的中率が約70%以上である組み合わせ、より好ましくは約80%以上、さらに好ましくは約90%以上、特に好ましくは約95%以上である組み合わせが挙げられる。ここで予測が的中するとは、PLsis陽性であると予測された化合物を哺乳動物細胞に曝露した際に細胞内にミエリン様構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物が観察され、PLsis陰性であると予測された化合物を哺乳動物細胞に曝露した際に細胞内にミエリン様構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物が観察されないことをいう。本明細書において、予測的中率は、図1～3に記載のPLsis陽性化合物および図4～5に記載のPLsis陰性化合物を基準化合物として算定される。

【0035】

本発明のキットの構成として、上記本発明の試薬がそれぞれ別個に提供されるもの〔例：核酸が標識プローブ（特にドットプロット解析の場合）やPCR（特にリアルタイム定量PCR）用プライマーとして機能する場合等〕、異なるPLsisマーカー遺伝子の発現を検出し得る核酸が同一の試薬中に含有されて提供されるもの〔例：核酸がPCR（特に、増幅産物のサイズ等により各マーカー遺伝子を区別し得る場合）や標識プローブ（特に、ノーザンプロット解析で転写産物のサイズにより各マーカー遺伝子を区別し得る場合）として機能する場合等〕、あるいは、異なるPLsisマーカー遺伝子の発現を検出し得る核酸が、同一の固相の別個の領域にそれぞれ固定化されて提供されるもの〔例：標識cRNA等とのハイブリダイゼーション用プローブとして機能する場合等〕などが例示されるが、これらに限定されない。

【0036】

本発明はまた、試験化合物を哺乳動物細胞含有試料またはヒトもしくは非ヒト哺乳動物に曝露した際の、1以上のPLsisマーカー遺伝子の発現変動を検出することを特徴とする、化合物のPLsis誘発ポテンシャルの予測方法を提供する。

本発明の方法により試験される化合物としては、例えば、医薬または動物薬の候補化合物などが挙げられる。特に、迅速に多検体を処理できるという点から、創薬初期段階で合成される多数の候補化合物群への適用が好ましい。この場合、細胞含有試料または非ヒト哺乳動物が被験体として用いられる。一方、PLsisマーカー遺伝子の発現変動は血液などの容易にサンプリングが可能な細胞含有試料を用いて測定することができるので、臨床試験という医薬品開発の最終段階においても好ましく使用し得る。

使用される哺乳動物細胞含有試料としては、哺乳動物（例：ヒト、サル、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、ウサギ、ハムスター、モルモット、マウス、ラット等）、望ましくは試験化合物の投与対象とされる哺乳動物のあらゆる細胞〔例えば、肝細胞、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、脾臓β細胞、骨髄細胞、メサングウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、杯細胞、内皮細胞、平滑筋細胞、線維芽細胞、線維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞（例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、単球）、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞など〕もしくはそれらの細胞が存在するあらゆる組織〔例えば、脳、脳の各部位（例、嗅球、扁桃核、大脳基底核、海馬、視床、視床下部、大脳皮質、延髄、小脳）、脊髄、下垂体、胃、脾臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆嚢、骨髄、副腎、皮膚、肺、消化管（例、大腸、小腸）、血管、心臓、胸腺、脾臓、顎下腺、末梢血、前立腺、睾丸、卵巣、胎盤、子宮、骨、関節、脂肪組織、骨格筋など〕、あるいは上記の細胞・組織から樹立される細胞株などが例示される。好ましくは、肝細胞、腎細胞、単球、末梢血リンパ球、線維芽細胞、副腎ステロイド産生細胞、精巣細胞、卵巣細胞、腹腔マクロファージ、肺胞上皮細胞、気管支上皮細胞、肺胞マクロファージ等が挙げられる。また、再現性の良さや（特にヒト細胞の場合）入手の容易さ等から細胞株の使用が好ましい。例えば、ヒト細胞株としては、肝癌由来のHepG2細胞株、リンパ腫由来のU-937細胞株、単球

由来のTHP-1細胞株、大腸癌由来のCaco-2細胞株、子宮頸癌由来のHeLa細胞株等が挙げられる。

一方、非ヒト哺乳動物としては、ラット、ハムスター、モルモット、ウサギ、マウス、サル、イヌ、ブタ、ネコ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ウシ等が例示されるがこれらに限定されない。好ましくは、ラット、ハムスター、モルモット、ウサギ、マウス、サル、イヌ等である。

【0037】

哺乳動物細胞含有試料を試験化合物に曝露する方法は特に制限はないが、具体的には、例えば、細胞株を試料として用いる場合、適当な培地中、好適な条件下で培養した細胞増殖期の細胞を、トリプシン-E D T Aなどを用いて剥離させ、遠心して細胞を回収した後、適当な培地〔例：約5～約20%の胎仔ウシ血清（FBS）を含むMEM培地（Science, 122: 501 (1952)）、DMEM培地（Virology, 8: 396 (1959)）、RPMI 1640培地（The Journal of the American Medical Association, 199: 519 (1967)）、199培地（Proceeding of the Society for the Biological Medicine, 73: 1 (1950)）など（必要に応じて、ペニシリン、ストレプトマイシン、ハイグロマイシン等の抗生物質をさらに添加してもよい）〕を加えて所望の細胞密度となるように懸濁する。細胞密度は、遺伝子発現およびその変動が検出可能であれば特に限定されないが、細胞が細胞増殖期の状態を保つように調整することが好ましい。したがって、好ましい当初細胞密度は使用する細胞の増殖速度等によって異なり、当業者であれば使用する細胞に応じて容易に設定することができるが、通常約 5×10^4 ～約 1×10^7 cells/mLである。適当な溶媒に溶解した試験化合物を培地でさらに希釈し、終濃度が、例えば細胞が生存し得る最高濃度（当該濃度は、別途組織学的観察を行って決定することができる）となるように、上記細胞懸濁液に添加して、通常条件下、例えば、CO₂インキュベーター中で、5% CO₂/95%大気、5% CO₂/5% O₂/90%大気等の雰囲気下、約30～約40℃で、約0.5～約168時間、好ましくは約3～約48時間、より好ましくは約23～約25時間培養する。

【0038】

哺乳動物を試験化合物に曝露する方法は、標的細胞（後にPLsisマーカー遺伝子の発現変動を調べるために該動物から採取する試料中に含まれる細胞）に十分量の試験化合物が到達するように、試験化合物を該動物に投与するものであれば特に制限はなく、例えば、試験化合物を固形、半固形、液状、エアロゾル等の形態で経口的もしくは非経口的（例：静脈内、筋肉内、腹腔内、動脈内、皮下、皮内、気道内等）に投与することができる。試験化合物の投与量は、化合物の種類、動物種、体重、投与形態などによって異なり、例えば、動物が生存し得る範囲で、標的細胞が生存し得る最高濃度の試験化合物に一定時間以上曝露され得るのに必要な量などが挙げられる。投与は1回ないし数回に分けて行うことができる。投与から試料採取までの時間は試験化合物の体内動態等によって異なるが、通常、初回投与から約3時間～約3日間である。

【0039】

試験化合物を投与された哺乳動物から採取される試料としては、哺乳動物細胞含有試料について例示された種々の細胞を含有するものが好ましく挙げられるが、迅速且つ簡便に採取することができ、動物への侵襲が少ないなどの点から、血液（例：末梢血）等が特に好ましい。

【0040】

本発明の予測方法において発現変動を調べられるPLsisマーカー遺伝子は特に制限されないが、例えば、リソソーム酵素をコードする遺伝子、脂質代謝（例：コレステロール合成、脂肪酸伸長反応、不飽和脂肪酸合成等）関連蛋白質をコードする遺伝子、輸送（例：脂肪酸輸送、蛋白質輸送、アミノ酸輸送等）関連蛋白質をコードする遺伝子、細胞増殖関連蛋白質をコードする遺伝子、プロテアーゼもしくはプロテアーゼインヒビターをコードする遺伝子、アミノ酸代謝関連蛋白質をコードする遺伝子などが挙げられる。より具体的には、PLsisと相関して発現が増加する遺伝子としては、GenBankデータベースに、それぞれNM_014960、NM_000859、AL518627、NM_002130、AA639705、BC005807、AF116616、NM_02

5225、U47674、D80010、NM_001731、AW134535、NM_004354、AF135266、AC007182、NM_003832、NM_019058、AB040875、AA488687、NM_018687、NM_021158、BG231932、NM_024307、NM_000235、AA873600、D63807、AF096304、AW150953、NM_001360、NM_021969、AC001305、NM_024090、NM_001443、NM_006214、NM_024108、NM_021980、NM_002151、AF003934、NM_000596、U15979、M92934、NM_002087、AK023348、NM_002773、NM_000131、BC003169、NM_002217、NM_003122、NM_001673、NM_000050、NM_001085、U08024、NM_003167、BC005161、AF162690、AW517464、AF116616、NM_017983、AL136653、NM_016061、BE966922、BE552428、NM_022823、NM_012445、NM_000792、NM_015930、NM_021800、NM_005980、NM_000565およびAB033025のIDを付されて登録されている塩基配列を含有するヒト遺伝子および他の哺乳動物におけるそれらのホモログ等が挙げられる。一方、PLsisと関連して発現が減少する遺伝子としては、GenBankデータベースに、それぞれNM_006931、AL110298、NM_006931、NM_001955、NM_003897、NM_003186、AA778684、NM_001283、NM_012242、AI934469、NM_003186およびNM_002450のIDを付されて登録されている塩基配列を有するヒト遺伝子および他の哺乳動物におけるそれらのホモログ等が挙げられる。

【0041】

好ましくは、本発明の予測方法において発現変動を調べられるPLsisマーカー遺伝子の少なくとも1つは、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21および23のいずれかに示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有するものである。より好ましくは、上記12個のPLsisマーカー遺伝子のうちのいずれか2個以上、さらに好ましくは3個以上、いっそう好ましくは4個以上、特に好ましくは5個以上、最も好ましくは6個以上を検出対象とする方法が挙げられる。

【0042】

あるいは、好適なマーカー遺伝子の組み合わせとして、本予測方法において全マーカー遺伝子の発現の平均変動率を指標とした場合に、PLsis誘発ポテンシャルの予測的中率が約70%以上である組み合わせ、より好ましくは約80%以上、さらに好ましくは約90%以上、特に好ましくは約95%以上である組み合わせが挙げられる。本発明の予測方法において「平均変動率」とは以下のように定義される。すなわち、各マーカー遺伝子について、哺乳動物（細胞）を試験化合物に曝露したときと曝露しなかったときとでそれぞれ発現量を測定し、曝露したときに発現量が増加した場合はその倍率（例えば、2倍に増加した場合は2）を、減少した場合はその倍率の逆数（例えば、1/2に減少した場合は2）を、それぞれの遺伝子についての発現変動率（X）とし、全マーカー遺伝子（n個）の発現変動率の平均値を平均変動率と定義する（下式）。

【0043】

〔数1〕

$$[\text{平均変動率}] = m_1 X_1 + m_2 X_2 + \dots + m_n X_n$$

（但し、 $m_1 + m_2 + \dots + m_n = 1$ ）

【0044】

上式において m_i （ $i = 1 \sim n$ ）は各遺伝子の重みを表す。重みに特に制限はないが、好ましくは $m_i \times n = 0.2 \sim 5$ であり、例えば、全て同じ重み（ $m_i = 1/n$ ）が挙げられる。

本発明の方法においては、この平均変動率が、後述する方法により決定された基準値以上の場合はPLsis陽性、基準値未満の場合はPLsis陰性と予測する。

【0045】

試験化合物に曝露された哺乳動物細胞含有試料および試験化合物を投与された哺乳動物から採取した試料におけるPLsisマーカー遺伝子の発現は、該試料からRNA（例：全RNA、mRNA）画分を調製し、該画分中に含まれる該マーカー遺伝子の転写産物を検出することにより調べることができる。RNA画分の調製は、グアニジン-CsCl超遠心法、AGPC法など公知の手法を用いて行うことができるが、市販のRNA抽出用キット（例：RNeasy Mini Kit; QIAGEN製等）を用いて、微量試料から迅速且つ簡便に高純度の全RNAを調製することができる。RNA画分中のPLsisマーカー遺伝子の転写産物を検

出する手段としては、例えば、ハイブリダイゼーション（ノーザンブロット、ドットブロット、DNAチップ解析等）を用いる方法、あるいはPCR（RT-PCR、競合PCR、リアルタイムPCR等）を用いる方法などが挙げられる。微量試料から迅速且つ簡便に定量性よくPLsisマーカー遺伝子の発現変動を検出できる点で競合PCRやリアルタイムPCRなどの定量的PCR法が、また、複数のマーカー遺伝子の発現変動を一括検出することができ、検出方法の選択によって定量性も向上させ得るなどの点でDNAチップ解析が好ましい。

【0046】

ノーザンブロットまたはドットブロットハイブリダイゼーションによる場合、PLsisマーカー遺伝子の検出は、標識プローブとして用いられる核酸を含有する上記本発明の試薬またはキットを用いて行うことができる。すなわち、ノーザンハイブリダイゼーションによる場合は、上記のようにして調製したRNA画分をゲル電気泳動にて分離した後、ニトロセルロース、ナイロン、ポリビニリデンジフロリド等のメンブレンに転写し、本発明の試薬または本発明のキット中に含まれる各試薬を含むハイブリダイゼーション緩衝液中、上記「ハイストリンジェントな条件下で」ハイブリダイゼーションさせた後、適当な方法でメンブレンに結合した標識量をバンド毎に測定することにより、各PLsisマーカー遺伝子の発現量を測定することができる。ドットブロットの場合も、RNA画分をスポットしたメンブレンを同様にハイブリダイゼーション反応に付し（各PLsisマーカー遺伝子についてそれぞれ行う）、スポットの標識量を測定することにより、各マーカー遺伝子の発現量を測定することができる。

【0047】

DNAチップ解析（上記本発明の試薬において記載した固相化プローブ）による場合、例えば、上記のようにして調製したRNA画分から、逆転写反応によりT7プロモーター等の適当なプロモーターを導入したcDNAを合成し、さらにRNAポリメラーゼを用いてcRNAを合成する（この時ビオチンなどで標識したモノヌクレオチドを基質として用いることにより、標識されたcRNAが得られる）。この標識cRNAを上記固相化プローブと接触させてハイブリダイゼーション反応させ、固相上の各プローブに結合した標識量を測定することにより、各PLsisマーカー遺伝子の発現量を測定することができる。当該方法は、検出するPLsisマーカー遺伝子（従って、固相化されるプローブ）の数が多くなるほど、迅速性および簡便性の面で有利である。

【0048】

好ましい実施態様によれば、本発明の予測方法において、PLsisマーカー遺伝子の発現を検出する方法として定量的PCR法が用いられる。定量的PCRとしては、例えば、競合PCRやリアルタイムPCRなどがあるが、増幅反応後の電気泳動が不要であるという点でリアルタイムPCRがより迅速性に優れている。

競合PCRによる場合、上記本発明の試薬において記載したプライマーセットに加えて、該プライマーセットで増幅でき、増幅後に標的核酸（すなわち、PLsisマーカー遺伝子の転写産物）の増幅産物と区別することができる（例えば、増幅サイズが異なる、制限酵素処理断片の泳動パターンが異なるなど）既知量のcompetitor核酸が用いられる。標的核酸とcompetitor核酸とはプライマーを奪い合って増幅が競合的に起こるので、増幅産物の量比が元の鋳型の量比を反映することになる。competitor核酸はDNAでもRNAでもよい。DNAの場合、上記のようにして調製されるRNA画分から逆転写反応によりcDNAを合成した後に、本発明の試薬およびcompetitorの共存下でPCRを行えばよく、RNAの場合は、RNA画分にcompetitorを添加して逆転写反応を行い、さらに本発明の試薬を添加してPCRを実施すればよい。

【0049】

一方、リアルタイムPCRは、蛍光試薬を用いて増幅量をリアルタイムでモニタリングする方法であり、サーマルサイクラーと分光蛍光光度計を一体化した装置を必要とする。このような装置は市販されている。用いる蛍光試薬によりいくつかの方法があり、例えば、インターカレンター法、TaqManTMプローブ法、Molecular Beacon法等が挙げられる。い

ずれも、上記のようにして調製されるRNA画分から逆転写反応によりcDNAを合成した後に、本発明の試薬とインターカレーター、TaqManTMプロープまたはMolecular Beaconプロープと呼ばれる蛍光試薬（プロープ）をそれぞれPCR反応系に添加するというものである。インターカレーターは合成された二本鎖DNAに結合して励起光の照射により蛍光を発するので、蛍光強度を測定することにより増幅産物の生成量をモニタリングすることができ、それによって元の鋳型cDNA量を推定することができる。TaqManTMプロープは両端を蛍光物質と消光物質をそれぞれで修飾した、標的核酸の増幅領域にハイブリダイズし得るオリゴヌクレオチドであり、アニーリング時に標的核酸にハイブリダイズするが消光物質の存在により蛍光を発せず、伸長反応時にDNAポリメラーゼのエキシヌクレアーゼ活性により分解されて蛍光物質が遊離することにより蛍光を発する。従って、蛍光強度を測定することにより増幅産物の生成量をモニタリングすることができ、それによって元の鋳型cDNA量を推定することができる。Molecular Beaconプロープは両端を蛍光物質と消光物質をそれぞれで修飾した、標的核酸の増幅領域にハイブリダイズし得るとともにヘアピン型二次構造をとり得るオリゴヌクレオチドであり、ヘアピン構造をとっている時は消光物質の存在により蛍光を発せず、アニーリング時に標的核酸にハイブリダイズして蛍光物質と消光物質との距離が広がることにより蛍光を発する。従って、蛍光強度を測定することにより増幅産物の生成量をモニタリングすることができ、それによって元の鋳型cDNA量を推定することができる。

【0050】

本発明の予測方法において、化合物のPLsis誘発ポテンシャルの有無を判定する基準は、その基準に基づく予測結果が化合物スクリーニング系としての使用に堪え得る程度に十分な信頼性を有する限り特に制限されない。例えば、(1) 検出対象であるすべてのPLsisマーカー遺伝子について、試験化合物の曝露により実質的に発現が増加または減少する（ここで「実質的に発現が増加または減少」とは上記と同義である）場合にPLsis陽性であると判定し、いずれかのPLsisマーカー遺伝子について、試験化合物の曝露により実質的に発現が変動しない（ここで「実質的に発現が変動しない」とは上記と同義である）場合にPLsis陰性であると判定する方法、(2) 検出対象であるすべてのPLsisマーカー遺伝子について、試験化合物の曝露により実質的に発現が増加または減少する場合にPLsis陽性であると判定する方法、(3) 検出対象であるn個のPLsisマーカー遺伝子のうち一定数（例えば、2～(n-1)個）以上について、試験化合物の曝露により実質的に発現が増加または減少する場合にPLsis陽性であると判定する方法などが挙げられる。しかしながら、上記(1)の方法によれば、偽陽性化合物の出現頻度を低減することはできるが、偽陰性化合物の出現頻度が多くなり、相当数のPLsis誘発化合物が排除されないという欠点がある。一方、(2)の方法によれば、偽陰性化合物の出現頻度を低減することはできるが、偽陽性化合物の出現頻度が多くなり、有望な化合物を排除して医薬品等の開発の幅を狭める可能性がある。

【0051】

本発明は、選択されたPLsisマーカー遺伝子の組み合わせにおいて、系の信頼性（予測的中率）を最大限に向上するための判定基準の決定方法を提供する。すなわち、当該方法は、哺乳動物細胞含有試料またはヒトもしくは非ヒト哺乳動物を、2以上（好ましくは5以上、より好ましくは10以上、さらに好ましくは15以上）の既知PLsis誘発化合物（例えば、図1～3に記載される化合物）および2以上（好ましくは5以上、より好ましくは10以上、さらに好ましくは15以上）の既知PLsis非誘発化合物（例えば、図4～5に記載される化合物）の各々に曝露し、該試料もしくは該哺乳動物より採取した試料において、選択された1以上のPLsisマーカー遺伝子の発現変動を検出し、該マーカー遺伝子の発現の平均変動率（ここで「平均変動率」は上記と同義である）と、現実のPLsis誘発ポテンシャルの有無とを比較することを特徴とする。尚、本発明において、現実のPLsis誘発ポテンシャルの有無は、哺乳動物細胞を化合物で曝露した際に細胞内にミエリン構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物の出現を認めるか否かによって決定さ

れるものとする。

【0052】

比較の結果、上記の既知PLsis誘発および非誘発化合物のPLsis誘発性の有無を、約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、特に好ましくは約95%以上の確率で正しく判定することができる平均変動率の値を求め、これを基準値とする。例えば、図1～5記載の化合物について、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21および23に示される各塩基配列を有する12個のPLsisマーカー遺伝子の発現変動を調べると、平均変動率（各遺伝子の重みはすべて同じとする）は図6に示される通りであり、17種のPLsis誘発化合物すべてを陽性と判定し、13種のPLsis非誘発化合物中12種を陰性と判定することができる（従って、約97%の確率で正しく判定することができる）平均変動率1.5を基準値として決定することができる。

【0053】

上記のようにして決定される基準値は、さらに別の既知PLsis誘発および非誘発化合物を用いて、同様にPLsisマーカー遺伝子の発現の平均変動率と現実のPLsis誘発ポテンシャルの有無とを比較することにより、その妥当性を検討することがさらに好ましい。新たに検討した化合物についての判定結果を総合して、より高い確率でPLsis誘発ポテンシャルの有無を正確に判定することができる平均変動率値が得られれば、基準値を補正すればよい。さらに、PLsis誘発ポテンシャルの有無が未知の化合物群について、本法による判定と顕微鏡学的観察とを行って既知化合物に関するデータを蓄積することにより、極めて精度の高い予測が可能となる。

【0054】

本発明のPLsis予測方法において指標として好ましく用いられる平均変動率の概念は、網羅的遺伝子発現解析を用いた化合物の他の毒性予測方法にも適用することができる。例えば、肝毒性（例：肝炎、肝壊死、脂肪肝等の誘発性）の予測方法として、肝細胞を数種～数十種の既知肝毒性化合物（例：アセトアミノフェン、アミトリプチリン、ANIT、四塩化炭素、酢酸シプロテロン、エストラジオール、インドメタシン等）に曝露した後、RNAを抽出し、常法によりcDNA、次いで標識cRNAを合成した後、これを断片化し、市販の哺乳動物ゲノムのDNAマイクロアレイ（例：GeneChip（登録商標）Affymetrix社製など）を用いて網羅的遺伝子発現解析を行い、例えば、調べた化合物の半数以上で発現が共通変動した遺伝子群を肝毒性マーカー遺伝子として同定し、これらのマーカー遺伝子のいくつかを選択して、肝細胞を試験化合物に曝露した際のマーカー遺伝子の発現の平均変動率を上記と同様にして調べることにより、化合物の肝毒性を精度よく予測することができるスクリーニング系を構築することができる。

【0055】

本明細書において、塩基やアミノ酸などを略号で表示する場合、IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature による略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、その例を下記する。またアミノ酸に関し光学異性体があり得る場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

DNA	: デオキシリボ核酸
cDNA	: 相補的デオキシリボ核酸
A	: アデニン
T	: チミン
G	: グアニン
C	: シトシン
RNA	: リボ核酸
mRNA	: メッセンジャーリボ核酸
dATP	: デオキシアデノシン三リン酸
dTTP	: デオキシチミジン三リン酸
dGTP	: デオキシグアノシン三リン酸
dCTP	: デオキシシチジン三リン酸

ATP	: アデノシン三リン酸
EDTA	: エチレンジアミン四酢酸
SDS	: ドデシル硫酸ナトリウム
Gly	: グリシン
Ala	: アラニン
Val	: バリン
Leu	: ロイシン
Ile	: イソロイシン
Ser	: セリン
Thr	: スレオニン
Cys	: システイン
Met	: メチオニン
Glu	: グルタミン酸
Asp	: アスパラギン酸
Lys	: リジン
Arg	: アルギニン
His	: ヒスチジン
Phe	: フェニルアラニン
Tyr	: チロシン
Trp	: トリプトファン
Pro	: プロリン
Asn	: アスパラギン
Gln	: グルタミン
pGlu	: ピログルタミン酸
Sec	: セレノシステイン (selenocysteine)

【0056】

以下に実施例を挙げて本発明をさらに具体的に説明するが、これらは単なる例示であって本発明の範囲を何ら限定するものではない。

【実施例1】

【0057】

参考例 化合物のPLsis誘発ポテンシャルの電子顕微鏡学的検査

以下の30種の市販薬を試験化合物として、PLsis誘発ポテンシャルの程度を、電子顕微鏡観察による細胞内ミエリン様構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物の出現を指標として調べた。アミオダロン (amiodarone) およびクロザピン (clozapine) はICN Biomedicalsから、イミプラミン (imipramine)、クラリスロマイシン (clarithromycin)、ジソピラミド (disopyramide)、エリスロマイシン (erythromycin)、ハロペリドール (haloperidol)、ケトコナゾール (ketoconazole)、キニジン (quinidine)、セルトラリン (sertraline) およびスルファメトキサゾール (sulfamethoxazole) は和光純薬工業 (株) から、アミトリプチリン (amitriptyline)、AY-9944、クロルシクリジン (chlorcyclizine)、クロルプロマジン (chlorpromazine)、クロミプラミン (clomipramine)、フルオキセチン (fluoxetine)、ペルヘキシリン (perhexiline)、タモキシフェン (tamoxifen)、チオリダジン (thioridazine)、ジメリジン (dimelidine)、アセトアミノフェン (acetaminophen)、フレカイニド (flecainide)、オフロキサシン (ofloxacin) およびソタロール (sotalol) はSigmaから、レボフロキサシン (levofloxacin) はApin Chemicalsから、ロラタジン (loratadine) およびスマトリプタン (sumatriptan) はKEMPROTECから、ペンタミジン (pentamidine) はTronto Research Chemicalsから、プロカイナミド (procainamide) はAldrich Chemicalからそれぞれ購入した。

【0058】

試験化合物は終濃度 (別途、細胞を72時間化合物に曝露して細胞が生存していた最高濃度を採用した) が8.3-25 $\mu\text{mol/L}$ になるようにジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した

。試験化合物の構造式、分子量、薬効、添加濃度を図1～5に示す。

HepG2細胞(ATCCより購入)への試験化合物の曝露は常法に従って実施した。HepG2細胞は細胞増殖期の細胞を用いた。付着しているHepG2細胞を0.05 w/v% EDTAを含むダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水(カルシウムおよびマグネシウム塩不含; PBS(-)) (大日本製薬)で2回洗浄後、0.25 vol% トリプシン-1 mmol/L EDTA (Gibco BRL) をPBS(-)で2倍に希釈した細胞解離液を用いて細胞を剥離させ、遠心して上清を除去し、培養液[50 U/mL ペニシリン (Gibco BRL) -50 mmol/L ストレプトマイシン (Gibco BRL) および5 vol% FBS (Bio whittaker) を添加したダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) (Gibco BRL)] を加えて 2×10^5 cells/250 μ Lの濃度に調整した。DMSOのみ、もしくは上記試験化合物のDMSO溶液を溶解した培養液を250 μ Lずつウェルに分注し、上記の細胞懸濁液250 μ Lを添加した後、CO₂インキュベーター(7100; Napco)中、5% 炭酸ガス-95% 空気の雰囲気下、37℃で培養した。

72時間培養後、培養液を除去し、1 w/v% グルタルアルデヒド溶液を加えて固定した。常法に従い2 w/v% オスミウム酸で2時間後固定し、アルコール系列で脱水後、樹脂(Qu etol 812)に包埋した。超薄切片を作製し、電子染色後、電子顕微鏡(H-300; 日立)で観察し、各サンプルあたり3枚以上の写真(倍率は5000倍)を撮影した。後固定以降の作業はアブライドメディカルリサーチにて実施した。電子顕微鏡写真を肉眼的に観察し、ミエリン様構造物の出現程度を重度、中等度、軽度、変化なしの4段階に盲検下で分類した(n=4)。尚、分類基準については、「重度」は大型のミエリン様構造物が複数見られるもの、「中等度」は中等度のミエリン様構造物が少数見られるもの、「軽度」は軽微なミエリン様構造物が少数見られるもの、「変化なし」はミエリン様構造物が見られないものとした。

その結果、12の既知PLsis誘発化合物(図1および2に示される化合物)のすべて、および18の評価系検討用化合物中5化合物(図3に示される化合物)において典型的なPLsis像であるミエリン様構造物がリソソームに認められた。一方、評価系検討用化合物中13化合物(図4および5に示される化合物)においては、リソソームに変化は認められなかった。ミエリン様構造物の出現程度をランク付けした結果を表1に示す(化合物の添加濃度は、培養72時間後に細胞が生存していた最高濃度を示す)。

【0059】

【表1】

ミエリン様構造物 出現程度	化合物	添加濃度 ($\mu\text{mol/L}$)
重度	アミトリプチリン	25
	クロルシクリジン	25
	フルオキセチン	8.3
中等度	アミオダロン	8.3
	AY-9944	8.3
	クロルプロマジン	8.3
	イミプラミン	25
	タモキシフェン	8.3
	ペルヘキシリン	8.3
	クロザピン	25
	セルトラリン	8.3
軽度	クロミプラミン	8.3
	チオリダジン	8.3
	ジメリジン	25
	ケトコナゾール	8.3
	ロラタジン	8.3
	ペンタミジン	8.3
変化なし	溶媒	-
	アセトアミノフェン	25
	クラリスロマイシン	25
	ジソピラミド	25
	エリスロマイシン	25
	フレカイニド	25
	ハロペリドール	8.3
	レボフロキサシン	25
	オフロキサシン	25
	プロカイナミド	25
	キニジン	25
	ソタロール	25
	スルファメトキサゾール	25
	スマトリプタン	25

【実施例2】

【0060】

既知PLsis誘発および非誘発化合物曝露による種々の遺伝子の発現変動

実施例1（参考例）と同様にして、HepG2細胞をPLsis誘発化合物17種およびPLsis非誘発化合物14種にそれぞれ24時間曝露した後、培養液を除去し、 -80°C で凍結保存した。RNeasy Mini Kit (QIAGEN) を用いて該細胞から全RNAを精製し、TaqMan Reverse Transcription Reagents (PE Applied Biosystems) を用いて100 μL の系でcDNAを合成した。

配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21および23に示される塩基配列を基に、PrimerExpress (PE Applied Biosystems) を用いてプライマーおよびFAM標識プローブを設計、合成（シグマジェノシスジャパン社に委託）した。各プライマーおよびプローブの配列は配列番号25～60にそれぞれ示した。グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ（GAPDH）のプライマーおよびVIC標識プローブはTaqMan GAPDH Control Reagents (PE Applied Biosystems) に添付のものを用了。

5 μL のcDNAを含む100 μL の反応液（1x TaqMan Universal PCR Master Mix (PE Applied Biosystems)、200 nM フォワードプライマー、200 nM リバースプライマーおよび200 nM TaqManプローブ）で、40サイクル（1サイクル= 95°C , 15秒; 60°C , 1分）のPCRを行った。PCRおよび蛍光検出は、ABI PRISM Sequence Detector 7000 (PE Applied Biosystems) を用いて実施した。内部標準としてGAPDHを用い、測定値の補正を行った。対照群との有意差判定にはt検定を用いた（ $n=3$ ）。

各試験化合物について、対照群に対する12遺伝子の各発現変動率を求めた。その結果を

表 2 に示す。調べた12遺伝子のすべてについて、PLsis誘発化合物の曝露によりその発現が変動し、PLsis非誘発化合物の曝露によってはその発現が実質的に変動しない傾向が認められた。従って、これら12の遺伝子は薬物のPLsis誘発ポテンシャル予測に有用なマーカー遺伝子であることが明らかとなった。

【 0 0 6 1 】

【表 2】

電子顕微鏡学的検査		ミエリン構造物の出現程度 ^a																			
		+++					++										+				
		発現変動率 ^b																			
遺伝子 ^b		アミログリン	カミオグリン	カミオグリン	アミログリン	アミログリン	アミログリン	アミログリン	アミログリン	アミログリン	アミログリン	アミログリン	アミログリン	アミログリン	アミログリン	アミログリン	アミログリン				
kiaa1001		2.11 *	2.47 **	1.93 **	1.56	1.68 *	1.90 *	2.11 **	1.98 **	1.85 **	3.34 *	2.38 *	2.24 *	2.24 *	2.24 **	1.42	1.82 **				
asah1		3.10 *	3.23 *	6.55 *	1.69	4.71 *	1.29	4.52	3.12	4.50 **	2.75	3.08	1.47	1.47	1.47	1.23	0.93				
mgc4171		2.22 **	2.43 **	1.34	1.32	1.63	1.74 *	1.81 *	1.93 *	1.60	1.88	1.94	1.53 *	1.53 *	1.53 *	1.57	0.73				
lss		1.79 **	2.98 **	3.51	1.82	4.78 *	1.99 **	2.69 **	3.10 **	3.01 **	2.69 **	3.91 **	4.33 **	4.33 **	1.54	0.52					
nr0b2		1.64	2.46 *	2.70	1.35	2.71 **	1.20	3.41 *	2.09 *	2.56 **	1.97	1.79	2.03	2.03	1.54	0.52					
fabp1		2.39 **	2.62 **	2.80 *	2.01 **	3.16 **	2.56 **	2.45 **	2.49 **	1.90 **	3.89 **	4.14 *	2.36 **	2.36 **	1.63	1.83	**				
hpn		2.20 *	2.97 *	2.39 **	2.15 **	2.68 **	1.70 **	2.32 **	2.22 *	2.19 *	2.35 **	3.07 **	5.30 **	5.30 **	1.58	0.15 *					
serpina3		3.01 **	2.23 **	1.73 **	1.17	1.97 *	1.94 **	2.12 **	2.50 **	2.12 **	1.96 *	2.69 *	1.74 **	1.74 **	1.52 *	2.50	*				
depp		5.08 **	3.24 *	3.08 *	1.12	3.32 **	2.95 **	3.36 **	2.55 **	2.02	5.15 **	4.44 *	2.03 **	2.03 **	1.83 *	2.12 *	*				
flj22362		1.80 **	2.96 **	2.15 **	1.07	1.45	1.70 *	1.80 *	3.42 **	1.53	1.92 **	3.49 *	2.67 **	2.67 **	0.79	2.88	**				
slc2a3		0.22 *	0.20 *	0.09 *	0.35 *	0.22 *	0.43	0.15 *	0.22 *	0.24 *	0.24 **	0.14 *	0.70	0.70	0.46 *	0.50 *	*				
tagln		0.23 **	0.30 **	0.20 *	0.56 *	0.21 *	0.65 *	0.15 *	0.26 **	0.27 *	0.24 **	0.37 **	0.59 *	0.59 *	0.44 **	0.68	*				

電子顕微鏡学的検査		ミエリン構造物の出現程度														
		発現変動率														
遺伝子		アミログリン	オリグログリン	シグマ2	シグマ3	シグマ4	シグマ5	シグマ6	シグマ7	シグマ8	シグマ9	シグマ10	シグマ11	シグマ12	シグマ13	シグマ14
kiaa1001	1.13	1.48	0.94	0.78	2.10	1.32	0.70	0.86	1.78	1.27	0.84	0.84	0.84	1.34	1.34	1.34
asah1	1.18	1.55	1.85	0.90	2.42	0.77	1.10	1.17	0.86	1.43	1.39	1.26	1.26	1.35	1.35	1.35
mgc4171	0.75	1.18	1.21	0.86	1.57	1.24	0.79	0.77	1.08	1.20	0.72	0.78	0.78	0.99	0.99	0.99
lss	0.91	0.65	1.14	0.87	1.22	1.52	0.75	0.78	0.90	1.30	0.88	0.82	0.82	1.23	1.23	1.23
nr0b2	0.69	0.78	0.83	0.90	1.02	1.49	0.79	0.81	0.74	1.03	0.63	0.82	0.82	0.63	0.63	0.63
fabp1	1.11	0.91	1.02	0.73	1.50	1.50	0.88	0.75	1.00	1.38	0.98	0.85	0.85	1.01	1.01	1.01
hpn	1.10	0.96	1.12	0.87	1.26	1.43	0.83	0.72	1.08	1.21	0.79	0.89	0.89	1.16	1.16	1.16
serpina3	0.99	1.39	0.99	0.85	1.60	1.31	0.92	0.82	0.95	1.22	0.78	0.98	0.98	0.95	0.95	0.95
depp	0.94	0.93	0.90	0.71	1.73	1.38	0.83	0.79	0.98	1.06	0.80	0.70	0.70	1.05	1.05	1.05
flj22362	1.02	1.00	0.98	0.92	1.65	0.93	0.83	0.68	0.73	1.26	0.85	0.87	0.87	1.26	1.26	1.26
slc2a3	1.50	**	0.86	1.03	0.73	0.46	0.44	1.07	0.94	0.88	0.37	**	1.53	1.11	1.11	1.11
tagln	0.93	0.86	0.99	0.85	0.86	0.52	0.90	0.74	**	0.85	0.63	*	0.80	0.99	0.99	1.06

^a 実施例1 (参考例) 参照

^b PLsis マーカー遺伝子の略称

^c 対照群の遺伝子発現量 (平均値) を1.0としたときの化合物添加群の遺伝子発現量の相対値 (平均値)

*, ** 対照群との有意差 (検定) *, p<0.05; **, p<0.01

【0062】

次に、各試験化合物について、12遺伝子の発現の平均変動率（各遺伝子はすべて同じ重みとする）を算出した。この平均変動率の値とミエリン様構造物の出現程度との相関を調べた結果を図6に示す。平均変動率の高いものほどミエリン用構造物の出現程度も大きい傾向があり、両者の間に良好な相関が認められた。また、PLsis誘発ポテンシャルの有無の判定基準値を平均変動率1.5とした場合、17のPLsis誘発化合物すべてで平均変動率1.5以上であるのに対し、13のPLsis非誘発化合物中12化合物において平均変動率1.5未満であり、計30化合物中29化合物（約97%）の確率でPLsis誘発ポテンシャルの有無を正しく判定することができた。

【実施例3】

【0063】

評価系の信頼性の確認

実施例1（参考例）と同様にして、HepG2細胞をPLsis誘発ポテンシャルの有無が未知の26種の化合物にそれぞれ24時間曝露した後、実施例2と同様にして、12のPLsisマーカー遺伝子の発現変動率を求め、平均変動率（各遺伝子はすべて同じ重みとする）を算出した。同じ実験を2回実施した。1回目の実験での平均変動率をx座標、2回目の実験での平均変動率をy座標として各試験化合物をプロットした結果を図7に示す。2回の実験結果を比較したところ、良好な再現性（ $R=0.907$ ）を示した。また、別途参考例の方法に従って、HepG2細胞をこれら26化合物に72時間曝露した際のミエリン様構造物の出現の有無を検出し、平均変動率との関係を調べた結果、PLsis陰性化合物はグラフ中の平均変動率1.5未満の領域に、PLsis陽性化合物は平均変動率1.5以上の領域にそれぞれ分布し、極めて良好な予測的中率を示すことが確認された。

【産業上の利用可能性】

【0064】

本発明の化合物のPLsis誘発ポテンシャルの予測方法は、偽陽性および偽陰性の確率が低く、信頼性に優れたPLsis誘発ポテンシャルのインビトロ評価系であるだけでなく、従来よりも迅速且つ簡便に多検体を処理することができるので、特に、創薬初期段階での医薬候補化合物の毒性評価に有用である。

【図面の簡単な説明】

【0065】

【図1】 PLsis誘発化合物（アミオダロン、アミトリプチリン、AY-9944、クロルシクリジン、クロルプロマジンおよびクロミプラミン）の構造式、分子量、薬効および添加濃度を示す図である。

【図2】 PLsis誘発化合物（フルオキセチン、イミプラミン、ペルヘキシリン、タモキシフェン、チオリダジンおよびジメリジン）の構造式、分子量、薬効および添加濃度を示す図である。

【図3】 PLsis誘発化合物（クロザピン、ケトコナゾール、ロラタジン、ペンタミジンおよびセルトラリン）の構造式、分子量、薬効および添加濃度を示す図である。

【図4】 PLsis非誘発化合物（アセトアミノフェン、クラリスロマイシン、ジソピラミド、エリスロマイシン、フレカイニドおよびハロペリドール）の構造式、分子量、薬効および添加濃度を示す図である。

【図5】 PLsis非誘発化合物（レボフロキサシン、オフロキサシン、プロカイナミド、キニジン、ソタロール、スルファメトキサゾールおよびスマトリプタン）の構造式、分子量、薬効および添加濃度を示す図である。

【図6】 化合物添加24時間後のHepG2細胞におけるPLsisマーカー遺伝子の発現の平均変動率（縦軸）と、化合物添加72時間後のHepG2細胞におけるミエリン様構造物の出現程度（横軸）との相関を示す図である。+++：大型のミエリン様構造物が複数認められる；++：中等度のミエリン様構造物が少数認められる；+：軽微なミエリン様構造物が少数認められる；-：ミエリン様構造物はみとめられない

【図7】 種々の化合物の添加24時間後のHepG2細胞におけるPLsisマーカー遺伝子の

発現の平均変動率の再現性を示す図である。横軸は 1 回目の実験により得られた平均変動率、縦軸は 2 回目の実験により得られた平均変動率をそれぞれ示す。

【配列表フリーテキスト】

【 0 0 6 6 】

[配列番号 2 5]

kiaal001遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 2 6]

kiaal001遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 2 7]

kiaal001遺伝子転写産物の増幅を検出するためのTaqManプローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 2 8]

asah1遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 2 9]

asah1遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 3 0]

asah1遺伝子転写産物の増幅を検出するためのTaqManプローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 3 1]

mgc4171遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 3 2]

mgc4171遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 3 3]

mgc4171遺伝子転写産物の増幅を検出するためのTaqManプローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 3 4]

lss遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 3 5]

lss遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 3 6]

lss遺伝子転写産物の増幅を検出するためのTaqManプローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 3 7]

nr0b2遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 3 8]

nr0b2遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 3 9]

nr0b2遺伝子転写産物の増幅を検出するためのTaqManプローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 4 0]

fabp1遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 4 1]

fabp1遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 4 2]

fabp1遺伝子転写産物の増幅を検出するためのTaqManプローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 4 3]

hpn遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 4 4]

hpn遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 4 5]

hpn遺伝子転写産物の増幅を検出するためのTaqManプローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 4 6]

serpina3遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 4 7]

serpina3遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 4 8]

serpina3遺伝子転写産物の増幅を検出するためのTaqManプローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 4 9]

depp遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 5 0]

depp遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 5 1]

depp遺伝子転写産物の増幅を検出するためのTaqManプローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 5 2]

flj22362遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 5 3]

flj22362遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 5 4]

flj22362遺伝子転写産物の増幅を検出するためのTaqManプローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 5 5]

slc2a3遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

[配列番号 5 6]

slc2a3遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

〔配列番号 5 7〕

slc2a3遺伝子転写産物の増幅を検出するためのTaqManプローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

〔配列番号 5 8〕

tagln遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

〔配列番号 5 9〕

tagln遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

〔配列番号 6 0〕

tagln遺伝子転写産物の増幅を検出するためのTaqManプローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Takeda Chemical Industries, Ltd.

<120> Method for Predicting Phospholipidosis-inducing Potential of Drug

<130> B03198

<160> 60

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

<211> 4304

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (459)..(2033)

<400> 1

gcgagaactc atcctgtagt caccagatgg agtcccaaac agccaagcag atgtaaggcc 60

tgtgctgtgg ctctgaggcc ctgaatacag aagggtcact ttcttagtgg ccaaagagca 120

gttggttgaca ttgatgtcta attattgaac acgaccagtc attttactga gctgcggtga 180

ggaaacactg accatagaag atcaagccaa atgagggatt gcaaatttcc tgattctttt 240

gaattaggat tccagatggg ggcctcattt ctacagcccc caacattcct atagccgtta 300

tcactgccat caccactgcc accagcatct tcttgcagat tccacccttg ctccccagag 360

acttcctgct ttgaaagtga gcagaaagga agctctcaga aaaatctcta gtggtggctg 420

ccgtcgctcc agacaatcgg aatcctgcct tcaccacc atg ggc tgg ctt ttt cta 476

Met Gly Trp Leu Phe Leu

1 5

aag gtt ttg ttg gcg gga gtg agt ttc tca gga ttt ctt tat cct ctt 524

Lys Val Leu Leu Ala Gly Val Ser Phe Ser Gly Phe Leu Tyr Pro Leu

10 15 20

gtg gat ttt tgc atc agt ggg aaa aca aga gga cag aag cca aac ttt 572

Val Asp Phe Cys Ile Ser Gly Lys Thr Arg Gly Gln Lys Pro Asn Phe

25 30 35

gtg att att ttg gcc gat gac atg ggg tgg ggt gac ctg gga gca aac Val Ile Ile Leu Ala Asp Asp Met Gly Trp Gly Asp Leu Gly Ala Asn 40 45 50	620
tgg gca gaa aca aag gac act gcc aac ctt gat aag atg gct tcg gag Trp Ala Glu Thr Lys Asp Thr Ala Asn Leu Asp Lys Met Ala Ser Glu 55 60 65 70	668
gga atg agg ttt gtg gat ttc cat gca gct gcc tcc acc tgc tca ccc Gly Met Arg Phe Val Asp Phe His Ala Ala Ala Ser Thr Cys Ser Pro 75 80 85	716
tcc cgg gct tcc ttg ctc acc ggc cgg ctt ggc ctt cgc aat gga gtc Ser Arg Ala Ser Leu Leu Thr Gly Arg Leu Gly Leu Arg Asn Gly Val 90 95 100	764
aca cgc aac ttt gca gtc act tct gtg gga ggc ctt ccg ctc aac gag Thr Arg Asn Phe Ala Val Thr Ser Val Gly Gly Leu Pro Leu Asn Glu 105 110 115	812
acc acc ttg gca gag gtg ctg cag cag gcg ggt tac gtc act ggg ata Thr Thr Leu Ala Glu Val Leu Gln Gln Ala Gly Tyr Val Thr Gly Ile 120 125 130	860
ata ggc aaa tgg cat ctt gga cac cac ggc tct tat cac ccc aac ttc Ile Gly Lys Trp His Leu Gly His His Gly Ser Tyr His Pro Asn Phe 135 140 145 150	908
cgt ggt ttt gat tac tac ttt gga atc cca tat agc cat gat atg ggc Arg Gly Phe Asp Tyr Tyr Phe Gly Ile Pro Tyr Ser His Asp Met Gly 155 160 165	956
tgt act gat act cca ggc tac aac cac cct cct tgt cca gcg tgt cca Cys Thr Asp Thr Pro Gly Tyr Asn His Pro Pro Cys Pro Ala Cys Pro 170 175 180	1004
cag ggt gat gga cca tca agg aac ctt caa aga gac tgt tac act gac Gln Gly Asp Gly Pro Ser Arg Asn Leu Gln Arg Asp Cys Tyr Thr Asp 185 190 195	1052
gtg gcc ctc cct ctt tat gaa aac ctc aac att gtg gag cag ccg gtg Val Ala Leu Pro Leu Tyr Glu Asn Leu Asn Ile Val Glu Gln Pro Val 200 205 210	1100
aac ttg agc agc ctt gcc cag aag tat gct gag aaa gca acc cag ttc Asn Leu Ser Ser Leu Ala Gln Lys Tyr Ala Glu Lys Ala Thr Gln Phe 215 220 225 230	1148
atc cag cgt gca agc acc agc ggg agg ccc ttc ctg ctc tat gtg gct Ile Gln Arg Ala Ser Thr Ser Gly Arg Pro Phe Leu Leu Tyr Val Ala	1196

235	240	245	
ctg gcc cac atg cac gtg ccc tta cct gtg act caa cta cca gca gcg Leu Ala His Met His Val Pro Leu Pro Val Thr Gln Leu Pro Ala Ala 250 255 260			1244
cca cgg ggc aga agc ctg tat ggt gca ggg ctc tgg gag atg gac agt Pro Arg Gly Arg Ser Leu Tyr Gly Ala Gly Leu Trp Glu Met Asp Ser 265 270 275			1292
ctg gtg ggc cag atc aag gac aaa gtt gac cac aca gtg aag gaa aac Leu Val Gly Gln Ile Lys Asp Lys Val Asp His Thr Val Lys Glu Asn 280 285 290			1340
aca ttc ctc tgg ttt aca gga gac aat ggc ccg tgg gct cag aag tgt Thr Phe Leu Trp Phe Thr Gly Asp Asn Gly Pro Trp Ala Gln Lys Cys 295 300 305 310			1388
gag cta gcg ggc agt gtg ggt ccc ttc act gga ttt tgg caa act cgt Glu Leu Ala Gly Ser Val Gly Pro Phe Thr Gly Phe Trp Gln Thr Arg 315 320 325			1436
caa ggg gga agt cca gcc aag cag acg acc tgg gaa gga ggg cac cgg Gln Gly Gly Ser Pro Ala Lys Gln Thr Thr Trp Glu Gly Gly His Arg 330 335 340			1484
gtc cca gca ctg gct tac tgg cct ggc aga gtt cca gtt aat gtc acc Val Pro Ala Leu Ala Tyr Trp Pro Gly Arg Val Pro Val Asn Val Thr 345 350 355			1532
agc act gcc ttg tta agc gtg ctg gac att ttt cca act gtg gta gcc Ser Thr Ala Leu Leu Ser Val Leu Asp Ile Phe Pro Thr Val Val Ala 360 365 370			1580
ctg gcc cag gcc agc tta cct caa gga cgg cgc ttt gat ggt gtg gac Leu Ala Gln Ala Ser Leu Pro Gln Gly Arg Arg Phe Asp Gly Val Asp 375 380 385 390			1628
gtc tcc gag gtg ctc ttt ggc cgg tca cag cct ggg cac agg gtg ctg Val Ser Glu Val Leu Phe Gly Arg Ser Gln Pro Gly His Arg Val Leu 395 400 405			1676
ttc cac ccc aac agc ggg gca gct gga gag ttt gga gcc ctg cag act Phe His Pro Asn Ser Gly Ala Ala Gly Glu Phe Gly Ala Leu Gln Thr 410 415 420			1724
gtc cgc ctg gag cgt tac aag gcc ttc tac att acc ggt gga gcc agg Val Arg Leu Glu Arg Tyr Lys Ala Phe Tyr Ile Thr Gly Gly Ala Arg 425 430 435			1772

gcg tgt gat ggg agc acg ggg cct gag ctg cag cat aag ttt cct ctg Ala Cys Asp Gly Ser Thr Gly Pro Glu Leu Gln His Lys Phe Pro Leu 440 445 450	1820
att ttc aac ctg gaa gac gat acc gca gaa gct gtg ccc cta gaa aga Ile Phe Asn Leu Glu Asp Asp Thr Ala Glu Ala Val Pro Leu Glu Arg 455 460 465 470	1868
ggc ggt gcg gag tac cag gct gtg ctg ccc gag gtc aga aag gtt ctt Gly Gly Ala Glu Tyr Gln Ala Val Leu Pro Glu Val Arg Lys Val Leu 475 480 485	1916
gca gac gtc ctc caa gac att gcc aac gac aac atc tcc agc cca gat Ala Asp Val Leu Gln Asp Ile Ala Asn Asp Asn Ile Ser Ser Pro Asp 490 495 500	1964
tac act cag gac cct tca gta act ccc tgc tgt aat ccc tac caa att Tyr Thr Gln Asp Pro Ser Val Thr Pro Cys Cys Asn Pro Tyr Gln Ile 505 510 515	2012
gcc tgc cgc tgt caa gcc gca taacagacca atttttattc cacgaggagg Ala Cys Arg Cys Gln Ala Ala 520 525	2063
agtacctgga aattaggcaa gtttgcttcc aaatttcatt tttaccctct ttacaaacac	2123
acgcttttagt ttagtcttgg agtttagttt tggagtttagc cttgcatatc ctttctgtat	2183
cctgtccctc ctccagccg acccgagagc agctgagctg cgctggctct gggcagggag	2243
tgtgccttaa tgggaagcac acgggctttg gagtcaggca caggtgccag ctccagcttt	2303
tgaacttggg caattgttta acctaacctg caagttgatt ttgagggtta aataaaggca	2363
tacatgaaaa tgccctggcaa attacctgac acagagcaga cattcaatac attttagttt	2423
ccttgtttct ctggttccca gtttctctgg tcatttttgt gttaaattccat tctaattagt	2483
atttagggca gagcttctct ctcttttctc tttttttcct tccacaaacc agtgtactca	2543
ctggtctcca tctttaatat gcaacaaat cacctgggat cttgtgagaa tccggattct	2603
gtctcagtag ggctcgagta gatcctgaaa tcctacattt ctatcaaaca atgccttgag	2663
gagcacagat ttagacaaaa gttaggtcgt tttccagatc tcagagcaga cgagtccatg	2723
gataagtctg tggcccaatc cccttcctct ccttttaagg gtgaaatgac tgcatttaaa	2783
agaagttaaa gagttcctcc tgtcccctat aaccacaagg aaacaaaaaa atatataaaa	2843

acctcaaaaa tgcattgccca tgattttatt attagtgtcc aaaatgggac tcccaagtaa 2903
taaagtattt attccagcca cagccaaaaa agactttgcc tggctaaaag agtctctctc 2963
taagtatgta atatacaaga aatacaattc aaagagatgt tcctataagt acatttttta 3023
cacggcatat atttaaaaag gaggcccctt ttaatataaa attccggtta tataccaata 3083
tggttaatta gcattttacac tatagtttga acgtatttta aatagcatga tgtgtataca 3143
atgtctcccg cgccatttgg caaccagggt cgtgggaagc ttggtgagga gttaaccagg 3203
tcctgtgggt taagcagtgg agcaccggg attcctgcc ccctttctgc tcacacaatt 3263
gcactccatt cttccgcctt cttgttttc tccaaaacca cctgataggg gggatgtcct 3323
gatttctgag gtgtgcttct catcatgact gcttcgtttt gcccttctga tttccacggc 3383
acaagattat ctaccaaatt caaaacagaa tggccttact cttctcagga agaggctggt 3443
aggcagggtgc attatcaaca ggtctgtgcc catgcagagt gagcaggagagg aggctgggca 3503
ctgtggaatt tttctgtctg aactcgtca tggccacaga atggtcaccc agcttattta 3563
gggttagaca agtatgacac agttctagaa aatactgact ataaaaatgt ctctgtgtgt 3623
gtgtgtatgt atttatatgt atatgtatat atttttaaaa ggctcatctt acttgtaaac 3683
atggactgct caatcactat taaaaagtca gtttaggctg ggcgcggtgg ctcacgcctg 3743
tagtcccaga gctttgggag gctgagggtg gtggatcact gggtcaggag tttgagacca 3803
gcctggccaa catggtgaaa ccccatcgct actaaaaaat acaaaaatta gccgggcatg 3863
gtggcgctca cctgtaatcc cggctactcg ggaggctgag gcaggagaga atcgcttgaa 3923
ccggggagggt ggaggctgca gtgagccgag atcgaccac tgactccag cctgggtgat 3983
ggagcaagac tccatctcaa aaaaaaaaaa gtcagtttag gctgggcgca gtggctcaca 4043
cctgtagtcc cagcacttta ggaggctgag gggggtgata acctgaggtc aggagtttga 4103
gaccagcctg gccaacatgg tgaaatcctg tctctgctaa aaatacaaaa tttagctggg 4163
catggtggcg tgcctgaaac cccagctact tgggaggctg aggcactaga atcgcttgag 4223
cctgggagggt ggaggttgca gtgagtggag atcgcgccaa cacattctag cctgaggagc 4283
agagtggagac tctatcatct c 4304

<210> 2
 <211> 525
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2

Met Gly Trp Leu Phe Leu Lys Val Leu Leu Ala Gly Val Ser Phe Ser
 1 5 10 15

Gly Phe Leu Tyr Pro Leu Val Asp Phe Cys Ile Ser Gly Lys Thr Arg
 20 25 30

Gly Gln Lys Pro Asn Phe Val Ile Ile Leu Ala Asp Asp Met Gly Trp
 35 40 45

Gly Asp Leu Gly Ala Asn Trp Ala Glu Thr Lys Asp Thr Ala Asn Leu
 50 55 60

Asp Lys Met Ala Ser Glu Gly Met Arg Phe Val Asp Phe His Ala Ala
 65 70 75 80

Ala Ser Thr Cys Ser Pro Ser Arg Ala Ser Leu Leu Thr Gly Arg Leu
 85 90 95

Gly Leu Arg Asn Gly Val Thr Arg Asn Phe Ala Val Thr Ser Val Gly
 100 105 110

Gly Leu Pro Leu Asn Glu Thr Thr Leu Ala Glu Val Leu Gln Gln Ala
 115 120 125

Gly Tyr Val Thr Gly Ile Ile Gly Lys Trp His Leu Gly His His Gly
 130 135 140

Ser Tyr His Pro Asn Phe Arg Gly Phe Asp Tyr Tyr Phe Gly Ile Pro
 145 150 155 160

Tyr Ser His Asp Met Gly Cys Thr Asp Thr Pro Gly Tyr Asn His Pro
 165 170 175

Pro Cys Pro Ala Cys Pro Gln Gly Asp Gly Pro Ser Arg Asn Leu Gln
180 185 190

Arg Asp Cys Tyr Thr Asp Val Ala Leu Pro Leu Tyr Glu Asn Leu Asn
195 200 205

Ile Val Glu Gln Pro Val Asn Leu Ser Ser Leu Ala Gln Lys Tyr Ala
210 215 220

Glu Lys Ala Thr Gln Phe Ile Gln Arg Ala Ser Thr Ser Gly Arg Pro
225 230 235 240

Phe Leu Leu Tyr Val Ala Leu Ala His Met His Val Pro Leu Pro Val
245 250 255

Thr Gln Leu Pro Ala Ala Pro Arg Gly Arg Ser Leu Tyr Gly Ala Gly
260 265 270

Leu Trp Glu Met Asp Ser Leu Val Gly Gln Ile Lys Asp Lys Val Asp
275 280 285

His Thr Val Lys Glu Asn Thr Phe Leu Trp Phe Thr Gly Asp Asn Gly
290 295 300

Pro Trp Ala Gln Lys Cys Glu Leu Ala Gly Ser Val Gly Pro Phe Thr
305 310 315 320

Gly Phe Trp Gln Thr Arg Gln Gly Gly Ser Pro Ala Lys Gln Thr Thr
325 330 335

Trp Glu Gly Gly His Arg Val Pro Ala Leu Ala Tyr Trp Pro Gly Arg
340 345 350

Val Pro Val Asn Val Thr Ser Thr Ala Leu Leu Ser Val Leu Asp Ile
355 360 365

Phe Pro Thr Val Val Ala Leu Ala Gln Ala Ser Leu Pro Gln Gly Arg
370 375 380

Arg Phe Asp Gly Val Asp Val Ser Glu Val Leu Phe Gly Arg Ser Gln
385 390 395 400

Pro Gly His Arg Val Leu Phe His Pro Asn Ser Gly Ala Ala Gly Glu
405 410 415

Phe Gly Ala Leu Gln Thr Val Arg Leu Glu Arg Tyr Lys Ala Phe Tyr
420 425 430

Ile Thr Gly Gly Ala Arg Ala Cys Asp Gly Ser Thr Gly Pro Glu Leu
435 440 445

Gln His Lys Phe Pro Leu Ile Phe Asn Leu Glu Asp Asp Thr Ala Glu
450 455 460

Ala Val Pro Leu Glu Arg Gly Gly Ala Glu Tyr Gln Ala Val Leu Pro
465 470 475 480

Glu Val Arg Lys Val Leu Ala Asp Val Leu Gln Asp Ile Ala Asn Asp
485 490 495

Asn Ile Ser Ser Pro Asp Tyr Thr Gln Asp Pro Ser Val Thr Pro Cys
500 505 510

Cys Asn Pro Tyr Gln Ile Ala Cys Arg Cys Gln Ala Ala
515 520 525

<210> 3
<211> 2258
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (20)..(1201)

<400> 3

ggcgttggct gctagagcg atg ccg ggc cgg agt tgc gtc gcc tta gtc ctc 52
 Met Pro Gly Arg Ser Cys Val Ala Leu Val Leu
 1 5 10

ctg gct gcc gcg tca gct gtg ccg tcg cag cac gcg ccg ccg tgg aca 100
 Leu Ala Ala Ala Ser Ala Val Pro Ser Gln His Ala Pro Pro Trp Thr
 15 20 25

gag gac tgc aga aaa tca acc tat cct cct tca gga cca acg tac aga 148
 Glu Asp Cys Arg Lys Ser Thr Tyr Pro Pro Ser Gly Pro Thr Tyr Arg
 30 35 40

ggt gca gtt cca tgg tac acc ata aat ctt gac tta cca ccc tac aaa 196
 Gly Ala Val Pro Trp Tyr Thr Ile Asn Leu Asp Leu Pro Pro Tyr Lys
 45 50 55

aga tgg cat gaa ttg atg ctt gac aag gca cca atg cta aag gtt ata 244
 Arg Trp His Glu Leu Met Leu Asp Lys Ala Pro Met Leu Lys Val Ile
 60 65 70 75

gtg aat tct ctg aag aat atg ata aat aca ttc gtg cca agt gga aaa 292
 Val Asn Ser Leu Lys Asn Met Ile Asn Thr Phe Val Pro Ser Gly Lys
 80 85 90

gtt atg cag gtg gtg gat gaa aaa ttg cct ggc cta ctt ggc aac ttt 340
 Val Met Gln Val Val Asp Glu Lys Leu Pro Gly Leu Leu Gly Asn Phe
 95 100 105

cct ggc cct ttt gaa gag gaa atg aag ggt att gcc gct gtt act gat 388
 Pro Gly Pro Phe Glu Glu Glu Met Lys Gly Ile Ala Ala Val Thr Asp
 110 115 120

ata cct tta gga gag att att tca ttc aat att ttt tat gaa tta ttt 436
 Ile Pro Leu Gly Glu Ile Ile Ser Phe Asn Ile Phe Tyr Glu Leu Phe
 125 130 135

acc att tgt act tca ata gta gca gaa gac aaa aaa ggt cat cta ata 484
 Thr Ile Cys Thr Ser Ile Val Ala Glu Asp Lys Lys Gly His Leu Ile
 140 145 150 155

cat ggg aga aac atg gat ttt gga gta ttt ctt ggg tgg aac ata aat 532
 His Gly Arg Asn Met Asp Phe Gly Val Phe Leu Gly Trp Asn Ile Asn
 160 165 170

aat gat acc tgg gtc ata act gag caa cta aaa cct tta aca gtg aat 580
 Asn Asp Thr Trp Val Ile Thr Glu Gln Leu Lys Pro Leu Thr Val Asn
 175 180 185

ttg gat ttc caa aga aac aac aaa act gtc ttc aag gct tca agc ttt 628

Leu Asp Phe Gln Arg Asn Asn Lys Thr Val Phe Lys Ala Ser Ser Phe			
190	195	200	
gct ggc tat gtg ggc atg tta aca gga ttc aaa cca gga ctg ttc agt	676		
Ala Gly Tyr Val Gly Met Leu Thr Gly Phe Lys Pro Gly Leu Phe Ser			
205	210	215	
ctt aca ctg aat gaa cgt ttc agt ata aat ggt ggt tat ctg ggt att	724		
Leu Thr Leu Asn Glu Arg Phe Ser Ile Asn Gly Gly Tyr Leu Gly Ile			
220	225	230	235
cta gaa tgg att ctg gga aag aaa gat gcc atg tgg ata ggg ttc ctc	772		
Leu Glu Trp Ile Leu Gly Lys Lys Asp Ala Met Trp Ile Gly Phe Leu			
	240	245	250
act aga aca gtt ctg gaa aat agc aca agt tat gaa gaa gcc aag aat	820		
Thr Arg Thr Val Leu Glu Asn Ser Thr Ser Tyr Glu Glu Ala Lys Asn			
	255	260	265
tta ttg acc aag acc aag ata ttg gcc cca gcc tac ttt atc ctg gga	868		
Leu Leu Thr Lys Thr Lys Ile Leu Ala Pro Ala Tyr Phe Ile Leu Gly			
	270	275	280
ggc aac cag tct ggg gaa ggt tgt gtg att aca cga gac aga aag gaa	916		
Gly Asn Gln Ser Gly Glu Gly Cys Val Ile Thr Arg Asp Arg Lys Glu			
	285	290	295
tca ttg gat gta tat gaa ctc gat gct aag cag ggt aga tgg tat gtg	964		
Ser Leu Asp Val Tyr Glu Leu Asp Ala Lys Gln Gly Arg Trp Tyr Val			
300	305	310	315
gta caa aca aat tat gac cgt tgg aaa cat ccc ttc ttc ctt gat gat	1012		
Val Gln Thr Asn Tyr Asp Arg Trp Lys His Pro Phe Phe Leu Asp Asp			
	320	325	330
cgc aga acg cct gca aag atg tgt ctg aac cgc acc agc caa gag aat	1060		
Arg Arg Thr Pro Ala Lys Met Cys Leu Asn Arg Thr Ser Gln Glu Asn			
	335	340	345
atc tca ttt gaa acc atg tat gat gtc ctg tca aca aaa cct gtc ctc	1108		
Ile Ser Phe Glu Thr Met Tyr Asp Val Leu Ser Thr Lys Pro Val Leu			
	350	355	360
aac aag ctg acc gta tac aca acc ttg ata gat gtt acc aaa ggt caa	1156		
Asn Lys Leu Thr Val Tyr Thr Thr Leu Ile Asp Val Thr Lys Gly Gln			
	365	370	375
ttc gaa act tac ctg cgg gac tgc cct gac cct tgt ata ggt tgg	1201		
Phe Glu Thr Tyr Leu Arg Asp Cys Pro Asp Pro Cys Ile Gly Trp			
380	385	390	

tgagcacacg tctggcctac agaatgcggc ctctgagaca tgaagacacc atctccatgt 1261
 gaccgaacac tgcagctgtc tgaccttcca aagactaaga ctgcgcggcag gttctctttg 1321
 agtcaatagc ttgtcttcgt ccatctgttg acaaatgaca gacttttttt ttttccccct 1381
 atcagttgat ttttcttatt tatagataac ttcttttaggg gaagtaaaac agtcatctag 1441
 aattcactga gttttgtttc actttgacat ttgggggatct ggtgggcagt cgaaccatgg 1501
 tgaactccac ctccgtgaat aaatggagat tcagcgtggg tgttgaatcc agcacgtctg 1561
 tgtgagtaac gggacagtaa acactccaca ttcttcagtt tttcacttct acctacatat 1621
 ttgtatgttt ttctgtataa cagccttttc cttctgggtc taactgctgt taaaattaat 1681
 atatcattat ctttgctgtt attgacagcg atataatttt attacatatg attagaggga 1741
 tgagacagac attcacctgt atatttcttt taatgggcac aaaattgggtg cctttgcctc 1801
 taaatagcac tttttcgggg tcaagaagta atcagatgca aagcaatcgt ttatacaata 1861
 attgaagcgc acctttcaat accactccag tacctaagga agtgctacta aactgcatcc 1921
 acgtctgtat agtaataaca gtcaagctgg aatcgaggac caattaattc caatggcaca 1981
 gagtagcatt catgtaataa acagggtttt agtttgttct tcagattgat agggagtttt 2041
 aaagaaatth tagtagttac taaaattatg ttactgtatt tttcagaaat ccaactgctt 2101
 atgaaaagta ctaatagaac ttgttaacct ttctaacctt cacgattaac tgtgaaatgt 2161
 acgtcatttg tgcaagaccg tttgtccact tcattttgta taatcacagt tgtgttcctg 2221
 acactcaata aacagtcatt ggaaagagaa aaaaaaa 2258

<210> 4
 <211> 394
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

Met Pro Gly Arg Ser Cys Val Ala Leu Val Leu Leu Ala Ala Ala Ser
 1 5 10 15

Ala Val Pro Ser Gln His Ala Pro Pro Trp Thr Glu Asp Cys Arg Lys

20

25

30

Ser Thr Tyr Pro Pro Ser Gly Pro Thr Tyr Arg Gly Ala Val Pro Trp
 35 40 45

Tyr Thr Ile Asn Leu Asp Leu Pro Pro Tyr Lys Arg Trp His Glu Leu
 50 55 60

Met Leu Asp Lys Ala Pro Met Leu Lys Val Ile Val Asn Ser Leu Lys
 65 70 75 80

Asn Met Ile Asn Thr Phe Val Pro Ser Gly Lys Val Met Gln Val Val
 85 90 95

Asp Glu Lys Leu Pro Gly Leu Leu Gly Asn Phe Pro Gly Pro Phe Glu
 100 105 110

Glu Glu Met Lys Gly Ile Ala Ala Val Thr Asp Ile Pro Leu Gly Glu
 115 120 125

Ile Ile Ser Phe Asn Ile Phe Tyr Glu Leu Phe Thr Ile Cys Thr Ser
 130 135 140

Ile Val Ala Glu Asp Lys Lys Gly His Leu Ile His Gly Arg Asn Met
 145 150 155 160

Asp Phe Gly Val Phe Leu Gly Trp Asn Ile Asn Asn Asp Thr Trp Val
 165 170 175

Ile Thr Glu Gln Leu Lys Pro Leu Thr Val Asn Leu Asp Phe Gln Arg
 180 185 190

Asn Asn Lys Thr Val Phe Lys Ala Ser Ser Phe Ala Gly Tyr Val Gly
 195 200 205

Met Leu Thr Gly Phe Lys Pro Gly Leu Phe Ser Leu Thr Leu Asn Glu
 210 215 220

Arg Phe Ser Ile Asn Gly Gly Tyr Leu Gly Ile Leu Glu Trp Ile Leu
225 230 235 240

Gly Lys Lys Asp Ala Met Trp Ile Gly Phe Leu Thr Arg Thr Val Leu
245 250 255

Glu Asn Ser Thr Ser Tyr Glu Glu Ala Lys Asn Leu Leu Thr Lys Thr
260 265 270

Lys Ile Leu Ala Pro Ala Tyr Phe Ile Leu Gly Gly Asn Gln Ser Gly
275 280 285

Glu Gly Cys Val Ile Thr Arg Asp Arg Lys Glu Ser Leu Asp Val Tyr
290 295 300

Glu Leu Asp Ala Lys Gln Gly Arg Trp Tyr Val Val Gln Thr Asn Tyr
305 310 315 320

Asp Arg Trp Lys His Pro Phe Phe Leu Asp Asp Arg Arg Thr Pro Ala
325 330 335

Lys Met Cys Leu Asn Arg Thr Ser Gln Glu Asn Ile Ser Phe Glu Thr
340 345 350

Met Tyr Asp Val Leu Ser Thr Lys Pro Val Leu Asn Lys Leu Thr Val
355 360 365

Tyr Thr Thr Leu Ile Asp Val Thr Lys Gly Gln Phe Glu Thr Tyr Leu
370 375 380

Arg Asp Cys Pro Asp Pro Cys Ile Gly Trp
385 390

<210> 5
<211> 1336
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (474)..(1241)

<400> 5

```

agcacagtcc cgcggacggc tgagcgtgtg gctgcaggag cttctgtggg agtacggtca      60
tgagcctttt gctgtactat gccctccctg ccctgggcag ctatgccatg ctctccatct      120
tcttcctgcg ccggcctcat ctgctgcaca cgcccagggc tcccaccttc cgcacccgcc      180
tgggggccca ccgaggagga tctggagagc tgctggagaa caccatggag gccatggaga      240
agtgagtgta tctgcccctg cccaggctgc catgtgaggg tgtgcaggtc gtggactgca      300
tcacagcaag ggacgccatt cacttcctag ctgggtgact ggcgccccct ggaggtggcc      360
tgcacatccc gccacgaact ccgctctcac attcccggcc acctcccagc caccatgccc      420
ctcatcccag tcccctgccc ctgccccccg ctgaccttca cccccacagc tcc atg      476
                                     Met
                                     1

gcc cag cgc tcg gac ctc ctg gag ctc gac tgt cag ctg aca cgg gac      524
Ala Gln Arg Ser Asp Leu Leu Glu Leu Asp Cys Gln Leu Thr Arg Asp
          5                      10                      15

aga gtg gtg gtg gtg tca cat gat gag aac ctg tgc cgc cag tcg ggc      572
Arg Val Val Val Val Ser His Asp Glu Asn Leu Cys Arg Gln Ser Gly
          20                      25                      30

cta aac agg gat gtg ggc agc ctg gac ttc gag gac ctg ccc ctc tac      620
Leu Asn Arg Asp Val Gly Ser Leu Asp Phe Glu Asp Leu Pro Leu Tyr
          35                      40                      45

aag gag aag ctg gag gtt tac ttc tct cca ggc cac ttt gct cac ggg      668
Lys Glu Lys Leu Glu Val Tyr Phe Ser Pro Gly His Phe Ala His Gly
          50                      55                      60                      65

tca gac cgg cgc atg gtt cgt ctg gag gac ctg ttc cag agg ttt cca      716
Ser Asp Arg Arg Met Val Arg Leu Glu Asp Leu Phe Gln Arg Phe Pro
          70                      75                      80

agg aca ccc atg agc gta gag atc aaa ggg aag aac gaa gag ctc atc      764
Arg Thr Pro Met Ser Val Glu Ile Lys Gly Lys Asn Glu Glu Leu Ile
          85                      90                      95

cgt gag ata gca ggc ttg gtg aga cgc tat gac cgt aat gaa atc acc      812
Arg Glu Ile Ala Gly Leu Val Arg Arg Tyr Asp Arg Asn Glu Ile Thr

```

100	105	110	
atc tgg gcc tcg gag aag agc	tcg gtc atg aag aaa	tgc aag gct gcc	860
Ile Trp Ala Ser Glu Lys Ser	Ser Ser Val Met Lys Lys	Cys Lys Ala Ala	
115	120	125	
aac ccc gag atg ccc ctg tcc ttc	aca ata agc cga gga ttc	tgg gtg	908
Asn Pro Glu Met Pro Leu Ser Phe	Thr Ile Ser Arg Gly Phe	Trp Val	
130	135	140 145	
ctg ctt tcc tac tac ctg ggg	ctg ctg ccc ttc atc cca	atc cct gag	956
Leu Leu Ser Tyr Tyr Leu Gly	Leu Leu Pro Phe Ile Pro	Ile Pro Glu	
150	155	160	
aag ttc ttc ttc tgc ttc ctg ccc	aac atc atc aac agg acc	tat ttc	1004
Lys Phe Phe Phe Cys Phe Leu	Pro Asn Ile Ile Asn Arg	Thr Tyr Phe	
165	170	175	
cca ttt tcc tgc tct tgc ctg aac	cag tta ttg gct gtg gtt	tcg aaa	1052
Pro Phe Ser Cys Ser Cys Leu	Asn Gln Leu Leu Ala Val	Val Ser Lys	
180	185	190	
tgg ctg atc atg agg aag agt	ctg atc cga cac ttg gag	gag cga ggg	1100
Trp Leu Ile Met Arg Lys Ser	Leu Ile Arg His Leu Glu	Glu Arg Gly	
195	200	205	
gtg cag gtg gtc ttt tgg tgc	ctt aat gaa gag tcg gat	ttt gaa gca	1148
Val Gln Val Val Phe Trp Cys	Leu Asn Glu Glu Ser Asp	Phe Glu Ala	
210	215	220 225	
gcc ttc agc gtg gga gcc act	ggc gtc ata acg gat tat	ccc aca gcc	1196
Ala Phe Ser Val Gly Ala Thr	Gly Val Ile Thr Asp Tyr	Pro Thr Ala	
230	235	240	
ctg cgg cac tac ctg gac aac	cat gga cca gct gcc cgg	acc tcc	1241
Leu Arg His Tyr Leu Asp Asn	His Gly Pro Ala Ala Arg	Thr Ser	
245	250	255	
taagtccaga agcctcgagg tcttctgttt ctcttcctga aaaataaata tttgcctttc			1301
gatcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa			1336

<210> 6
 <211> 256
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 6

Met Ala Gln Arg Ser Asp Leu Leu Glu Leu Asp Cys Gln Leu Thr Arg
1 5 10 15

Asp Arg Val Val Val Val Ser His Asp Glu Asn Leu Cys Arg Gln Ser
20 25 30

Gly Leu Asn Arg Asp Val Gly Ser Leu Asp Phe Glu Asp Leu Pro Leu
35 40 45

Tyr Lys Glu Lys Leu Glu Val Tyr Phe Ser Pro Gly His Phe Ala His
50 55 60

Gly Ser Asp Arg Arg Met Val Arg Leu Glu Asp Leu Phe Gln Arg Phe
65 70 75 80

Pro Arg Thr Pro Met Ser Val Glu Ile Lys Gly Lys Asn Glu Glu Leu
85 90 95

Ile Arg Glu Ile Ala Gly Leu Val Arg Arg Tyr Asp Arg Asn Glu Ile
100 105 110

Thr Ile Trp Ala Ser Glu Lys Ser Ser Val Met Lys Lys Cys Lys Ala
115 120 125

Ala Asn Pro Glu Met Pro Leu Ser Phe Thr Ile Ser Arg Gly Phe Trp
130 135 140

Val Leu Leu Ser Tyr Tyr Leu Gly Leu Leu Pro Phe Ile Pro Ile Pro
145 150 155 160

Glu Lys Phe Phe Phe Cys Phe Leu Pro Asn Ile Ile Asn Arg Thr Tyr
165 170 175

Phe Pro Phe Ser Cys Ser Cys Leu Asn Gln Leu Leu Ala Val Val Ser
180 185 190

Lys Trp Leu Ile Met Arg Lys Ser Leu Ile Arg His Leu Glu Glu Arg
195 200 205

Gly Val Gln Val Val Phe Trp Cys Leu Asn Glu Glu Ser Asp Phe Glu
 210 215 220

Ala Ala Phe Ser Val Gly Ala Thr Gly Val Ile Thr Asp Tyr Pro Thr
 225 230 235 240

Ala Leu Arg His Tyr Leu Asp Asn His Gly Pro Ala Ala Arg Thr Ser
 245 250 255

<210> 7
 <211> 2631
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (19)..(2214)

<400> 7
 gagagcactg cagcagca atg acg gag ggc acg tgt ctg cgg cgc cga ggg 51
 Met Thr Glu Gly Thr Cys Leu Arg Arg Arg Gly
 1 5 10

ggc ccc tac aag acc gag ccc gcc acc gac ctc ggc cgc tgg cga ctc 99
 Gly Pro Tyr Lys Thr Glu Pro Ala Thr Asp Leu Gly Arg Trp Arg Leu
 15 20 25

aac tgc gag agg ggc cgg cag acg tgg acc tac ctg cag gac gag cgc 147
 Asn Cys Glu Arg Gly Arg Gln Thr Trp Thr Tyr Leu Gln Asp Glu Arg
 30 35 40

gcc ggc cgc gag cag acc ggc ctg gaa gcc tac gcc ctg ggg ctg gac 195
 Ala Gly Arg Glu Gln Thr Gly Leu Glu Ala Tyr Ala Leu Gly Leu Asp
 45 50 55

acc aag aat tac ttt aag gac ttg ccc aaa gcc cac acc gcc ttt gag 243
 Thr Lys Asn Tyr Phe Lys Asp Leu Pro Lys Ala His Thr Ala Phe Glu
 60 65 70 75

ggg gct ctg aac ggg atg aca ttt tac gtg ggg ctg cag gct gag gat 291
 Gly Ala Leu Asn Gly Met Thr Phe Tyr Val Gly Leu Gln Ala Glu Asp
 80 85 90

ggg cac tgg acg ggt gat tat ggt ggc cca ctt ttc ctc ctg cca ggc 339

Gly His Trp Thr Gly Asp Tyr Gly Gly Pro Leu Phe Leu Leu Pro Gly	
95 100 105	
ctc ctg atc act tgc cac gtg gca cgc atc cct ctg cca gcc gga tac	387
Leu Leu Ile Thr Cys His Val Ala Arg Ile Pro Leu Pro Ala Gly Tyr	
110 115 120	
aga gaa gag att gtg cgg tac ctg cgg tca gtg cag ctc cct gac ggt	435
Arg Glu Glu Ile Val Arg Tyr Leu Arg Ser Val Gln Leu Pro Asp Gly	
125 130 135	
ggc tgg ggc ctg cac att gag gat aag tcc acc gtg ttt ggg act gcg	483
Gly Trp Gly Leu His Ile Glu Asp Lys Ser Thr Val Phe Gly Thr Ala	
140 145 150 155	
ctc aac tat gtg tct ctc aga att ctg ggt gtt ggg cct gac gat cct	531
Leu Asn Tyr Val Ser Leu Arg Ile Leu Gly Val Gly Pro Asp Asp Pro	
160 165 170	
gac ctg gta cga gcc cgg aac att ctt cac aag aaa ggt ggt gct gtg	579
Asp Leu Val Arg Ala Arg Asn Ile Leu His Lys Lys Gly Gly Ala Val	
175 180 185	
gcc atc ccc tcc tgg ggg aag ttc tgg ctg gct gtc ctg aat gtt tac	627
Ala Ile Pro Ser Trp Gly Lys Phe Trp Leu Ala Val Leu Asn Val Tyr	
190 195 200	
agc tgg gaa ggc ctc aat acc ctg ttc cca gag atg tgg ctg ttt cct	675
Ser Trp Glu Gly Leu Asn Thr Leu Phe Pro Glu Met Trp Leu Phe Pro	
205 210 215	
gac tgg gca ccg gca cac ccc tcc aca ctc tgg tgc cac tgc cgg cag	723
Asp Trp Ala Pro Ala His Pro Ser Thr Leu Trp Cys His Cys Arg Gln	
220 225 230 235	
gtg tac ctg ccc atg agc tac tgc tac gcc gtt cgg ctg agt gcc gcg	771
Val Tyr Leu Pro Met Ser Tyr Cys Tyr Ala Val Arg Leu Ser Ala Ala	
240 245 250	
gaa gac ccg ctg gtc cag agc ctc cgc cag gag ctc tat gtg gag gac	819
Glu Asp Pro Leu Val Gln Ser Leu Arg Gln Glu Leu Tyr Val Glu Asp	
255 260 265	
ttc gcc agc att gac tgg ctg gcg cag agg aac aac gtg gcc ccc gac	867
Phe Ala Ser Ile Asp Trp Leu Ala Gln Arg Asn Asn Val Ala Pro Asp	
270 275 280	
gag ctg tac acg ccg cac agc tgg ctg ctc cgc gtg gta tat gcg ctc	915
Glu Leu Tyr Thr Pro His Ser Trp Leu Leu Arg Val Val Tyr Ala Leu	
285 290 295	

ctc aac ctg tat gag cac cac cac agt gcc cac ctg cgg cag cgg gcc	963
Leu Asn Leu Tyr Glu His His His Ser Ala His Leu Arg Gln Arg Ala	
300 305 310 315	
gtg cag aag ctg tat gaa cac att gtg gcc gac gac cga ttc acc aag	1011
Val Gln Lys Leu Tyr Glu His Ile Val Ala Asp Asp Arg Phe Thr Lys	
320 325 330	
agc atc agc atc ggc ccg atc tcg aaa acc atc aac atg ctt gtg cgc	1059
Ser Ile Ser Ile Gly Pro Ile Ser Lys Thr Ile Asn Met Leu Val Arg	
335 340 345	
tgg tat gtg gac ggg ccc gcc tcc act gcc ttc cag gag cat gtc tcc	1107
Trp Tyr Val Asp Gly Pro Ala Ser Thr Ala Phe Gln Glu His Val Ser	
350 355 360	
aga atc ccg gac tat ctc tgg atg ggc ctt gac ggc atg aaa atg cag	1155
Arg Ile Pro Asp Tyr Leu Trp Met Gly Leu Asp Gly Met Lys Met Gln	
365 370 375	
ggc acc aac ggc tca cag atc tgg gac acc gca ttc gcc atc cag gct	1203
Gly Thr Asn Gly Ser Gln Ile Trp Asp Thr Ala Phe Ala Ile Gln Ala	
380 385 390 395	
ctg ctt gag gcg ggc ggg cac cac agg ccc gag ttt tcg tcc tgc ctg	1251
Leu Leu Glu Ala Gly Gly His His Arg Pro Glu Phe Ser Ser Cys Leu	
400 405 410	
cag aag gct cat gag ttc ctg agg ctc tca cag gtc cca gat aac cct	1299
Gln Lys Ala His Glu Phe Leu Arg Leu Ser Gln Val Pro Asp Asn Pro	
415 420 425	
ccc gac tac cag aag tac tac cgc cag atg cgc aag ggt ggc ttc tcc	1347
Pro Asp Tyr Gln Lys Tyr Tyr Arg Gln Met Arg Lys Gly Gly Phe Ser	
430 435 440	
ttc agt acg ctg gac tgc ggc tgg atc gtt tct gac tgc acg gct gag	1395
Phe Ser Thr Leu Asp Cys Gly Trp Ile Val Ser Asp Cys Thr Ala Glu	
445 450 455	
gcc ttg aag gct gtg ctg ctc ctg cag gag aag tgt ccc cat gtc acc	1443
Ala Leu Lys Ala Val Leu Leu Leu Gln Glu Lys Cys Pro His Val Thr	
460 465 470 475	
gag cac atc ccc aga gaa cgg ctc tgc gat gct gtg gct gtg ctg ctg	1491
Glu His Ile Pro Arg Glu Arg Leu Cys Asp Ala Val Ala Val Leu Leu	
480 485 490	
aac atg aga aat cca gat gga ggg ttc gcc acc tat gag acc aag cgt	1539

Asn Met Arg Asn Pro Asp Gly Gly Phe Ala Thr Tyr Glu Thr Lys Arg	495	500	505	
ggg ggg cac ttg ctg gag ctg ctg aac ccc tcg gag gtc ttc ggg gac				1587
Gly Gly His Leu Leu Glu Leu Leu Asn Pro Ser Glu Val Phe Gly Asp	510	515	520	
atc atg att gac tac acc tat gtg gag tgc acc tca gcc gtg atg cag				1635
Ile Met Ile Asp Tyr Thr Tyr Val Glu Cys Thr Ser Ala Val Met Gln	525	530	535	
gcg ctt aag tat ttc cac aag cgt ttc ccg gag cac agg gca gcg gag				1683
Ala Leu Lys Tyr Phe His Lys Arg Phe Pro Glu His Arg Ala Ala Glu	540	545	550	555
atc cgg gag acc ctc acg cag ggc tta gag ttc tgt cgg cgg cag cag				1731
Ile Arg Glu Thr Leu Thr Gln Gly Leu Glu Phe Cys Arg Arg Gln Gln	560	565	570	
agg gcc gat ggc tcc tgg gaa ggc tcc tgg gga gtt tgc ttc acc tac				1779
Arg Ala Asp Gly Ser Trp Glu Gly Ser Trp Gly Val Cys Phe Thr Tyr	575	580	585	
ggc acc tgg ttt ggc ctg gag gcc ttc gcc tgt atg ggg cag acc tac				1827
Gly Thr Trp Phe Gly Leu Glu Ala Phe Ala Cys Met Gly Gln Thr Tyr	590	595	600	
cga gat ggg act gcc tgt gca gag gtc tcc cgg gcc tgt gac ttc ctg				1875
Arg Asp Gly Thr Ala Cys Ala Glu Val Ser Arg Ala Cys Asp Phe Leu	605	610	615	
ctg tcc cgg cag atg gca gac gga ggc tgg ggg gag gac ttt gag tcc				1923
Leu Ser Arg Gln Met Ala Asp Gly Gly Trp Gly Glu Asp Phe Glu Ser	620	625	630	635
tgc gag gag cgg cgt tat ttg cag agt gcc cag tcc cag atc cat aac				1971
Cys Glu Glu Arg Arg Tyr Leu Gln Ser Ala Gln Ser Gln Ile His Asn	640	645	650	
aca tgc tgg gcc atg atg ggg ctg atg gcc gtt cgg cat cct gac atc				2019
Thr Cys Trp Ala Met Met Gly Leu Met Ala Val Arg His Pro Asp Ile	655	660	665	
gag gcc cag gag aga gga gtc cgg tgt cta ctt gag aaa cag ctc ccc				2067
Glu Ala Gln Glu Arg Gly Val Arg Cys Leu Leu Glu Lys Gln Leu Pro	670	675	680	
aat ggc gac tgg ccg cag gaa aac att gct ggg gtc ttc aac aag tcc				2115
Asn Gly Asp Trp Pro Gln Glu Asn Ile Ala Gly Val Phe Asn Lys Ser	685	690	695	

tgt gcc atc tcc tac acg agc tac agg aac atc ttc ccc atc tgg gcc 2163
Cys Ala Ile Ser Tyr Thr Ser Tyr Arg Asn Ile Phe Pro Ile Trp Ala
700 705 710 715

ctc ggc cgc ttc tcc cag ctg tac cct gag aga gcc ctt gct ggc cac 2211
Leu Gly Arg Phe Ser Gln Leu Tyr Pro Glu Arg Ala Leu Ala Gly His
720 725 730

ccc tgagaacatg cctacctgct gggtgccgtc tgtgcgttcc atggccttca 2264
Pro

agtcacagga cgcagcgatt ccctgccctc ttcgggtgtta ttacacaggc aggacttcag 2324

tgtcagtatc cctgccttca gtcttcttta gaaatcacat ctgtgttcaa tccattgttt 2384

agagggagtg tatttttcct gtccacgaa gaggactttt tgttcacaat tggatcacia 2444

tgcagaggag tctgttcctc ccccgctcggc ttctcgggtgc tgggaggggtg acctgtccca 2504

gatgactcat caccctgaca tgctcttgac aaaggacacc accaagagga gatggcagct 2564

gtaccggtgc agcctctgtc tgaggggggat atttcctca gtgtgattaa aaatcagtca 2624

tgaaaga 2631

<210> 8

<211> 732

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Thr Glu Gly Thr Cys Leu Arg Arg Arg Gly Gly Pro Tyr Lys Thr
1 5 10 15

Glu Pro Ala Thr Asp Leu Gly Arg Trp Arg Leu Asn Cys Glu Arg Gly
20 25 30

Arg Gln Thr Trp Thr Tyr Leu Gln Asp Glu Arg Ala Gly Arg Glu Gln
35 40 45

Thr Gly Leu Glu Ala Tyr Ala Leu Gly Leu Asp Thr Lys Asn Tyr Phe
50 55 60

Lys Asp Leu Pro Lys Ala His Thr Ala Phe Glu Gly Ala Leu Asn Gly
65 70 75 80

Met Thr Phe Tyr Val Gly Leu Gln Ala Glu Asp Gly His Trp Thr Gly
85 90 95

Asp Tyr Gly Gly Pro Leu Phe Leu Leu Pro Gly Leu Leu Ile Thr Cys
100 105 110

His Val Ala Arg Ile Pro Leu Pro Ala Gly Tyr Arg Glu Glu Ile Val
115 120 125

Arg Tyr Leu Arg Ser Val Gln Leu Pro Asp Gly Gly Trp Gly Leu His
130 135 140

Ile Glu Asp Lys Ser Thr Val Phe Gly Thr Ala Leu Asn Tyr Val Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ile Leu Gly Val Gly Pro Asp Asp Pro Asp Leu Val Arg Ala
165 170 175

Arg Asn Ile Leu His Lys Lys Gly Gly Ala Val Ala Ile Pro Ser Trp
180 185 190

Gly Lys Phe Trp Leu Ala Val Leu Asn Val Tyr Ser Trp Glu Gly Leu
195 200 205

Asn Thr Leu Phe Pro Glu Met Trp Leu Phe Pro Asp Trp Ala Pro Ala
210 215 220

His Pro Ser Thr Leu Trp Cys His Cys Arg Gln Val Tyr Leu Pro Met
225 230 235 240

Ser Tyr Cys Tyr Ala Val Arg Leu Ser Ala Ala Glu Asp Pro Leu Val
245 250 255

Gln Ser Leu Arg Gln Glu Leu Tyr Val Glu Asp Phe Ala Ser Ile Asp

260

265

270

Trp Leu Ala Gln Arg Asn Asn Val Ala Pro Asp Glu Leu Tyr Thr Pro
275 280 285

His Ser Trp Leu Leu Arg Val Val Tyr Ala Leu Leu Asn Leu Tyr Glu
290 295 300

His His His Ser Ala His Leu Arg Gln Arg Ala Val Gln Lys Leu Tyr
305 310 315 320

Glu His Ile Val Ala Asp Asp Arg Phe Thr Lys Ser Ile Ser Ile Gly
325 330 335

Pro Ile Ser Lys Thr Ile Asn Met Leu Val Arg Trp Tyr Val Asp Gly
340 345 350

Pro Ala Ser Thr Ala Phe Gln Glu His Val Ser Arg Ile Pro Asp Tyr
355 360 365

Leu Trp Met Gly Leu Asp Gly Met Lys Met Gln Gly Thr Asn Gly Ser
370 375 380

Gln Ile Trp Asp Thr Ala Phe Ala Ile Gln Ala Leu Leu Glu Ala Gly
385 390 395 400

Gly His His Arg Pro Glu Phe Ser Ser Cys Leu Gln Lys Ala His Glu
405 410 415

Phe Leu Arg Leu Ser Gln Val Pro Asp Asn Pro Pro Asp Tyr Gln Lys
420 425 430

Tyr Tyr Arg Gln Met Arg Lys Gly Gly Phe Ser Phe Ser Thr Leu Asp
435 440 445

Cys Gly Trp Ile Val Ser Asp Cys Thr Ala Glu Ala Leu Lys Ala Val
450 455 460

Leu Leu Leu Gln Glu Lys Cys Pro His Val Thr Glu His Ile Pro Arg
465 470 475 480

Glu Arg Leu Cys Asp Ala Val Ala Val Leu Leu Asn Met Arg Asn Pro
485 490 495

Asp Gly Gly Phe Ala Thr Tyr Glu Thr Lys Arg Gly Gly His Leu Leu
500 505 510

Glu Leu Leu Asn Pro Ser Glu Val Phe Gly Asp Ile Met Ile Asp Tyr
515 520 525

Thr Tyr Val Glu Cys Thr Ser Ala Val Met Gln Ala Leu Lys Tyr Phe
530 535 540

His Lys Arg Phe Pro Glu His Arg Ala Ala Glu Ile Arg Glu Thr Leu
545 550 555 560

Thr Gln Gly Leu Glu Phe Cys Arg Arg Gln Gln Arg Ala Asp Gly Ser
565 570 575

Trp Glu Gly Ser Trp Gly Val Cys Phe Thr Tyr Gly Thr Trp Phe Gly
580 585 590

Leu Glu Ala Phe Ala Cys Met Gly Gln Thr Tyr Arg Asp Gly Thr Ala
595 600 605

Cys Ala Glu Val Ser Arg Ala Cys Asp Phe Leu Leu Ser Arg Gln Met
610 615 620

Ala Asp Gly Gly Trp Gly Glu Asp Phe Glu Ser Cys Glu Glu Arg Arg
625 630 635 640

Tyr Leu Gln Ser Ala Gln Ser Gln Ile His Asn Thr Cys Trp Ala Met
645 650 655

Met Gly Leu Met Ala Val Arg His Pro Asp Ile Glu Ala Gln Glu Arg

660

665

670

Gly Val Arg Cys Leu Leu Glu Lys Gln Leu Pro Asn Gly Asp Trp Pro
 675 680 685

Gln Glu Asn Ile Ala Gly Val Phe Asn Lys Ser Cys Ala Ile Ser Tyr
 690 695 700

Thr Ser Tyr Arg Asn Ile Phe Pro Ile Trp Ala Leu Gly Arg Phe Ser
 705 710 715 720

Gln Leu Tyr Pro Glu Arg Ala Leu Ala Gly His Pro
 725 730

<210> 9
 <211> 1168
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (30)..(800)

<400> 9
 gagctggaag tgagagcaga tccctaacc atg agc acc agc caa cca ggg gcc 53
 Met Ser Thr Ser Gln Pro Gly Ala
 1 5

tgc cca tgc cag gga gct gca agc cgc ccc gcc att ctc tac gca ctt 101
 Cys Pro Cys Gln Gly Ala Ala Ser Arg Pro Ala Ile Leu Tyr Ala Leu
 10 15 20

ctg agc tcc agc ctc aag gct gtc ccc cga ccc cgt agc cgc tgc cta 149
 Leu Ser Ser Ser Leu Lys Ala Val Pro Arg Pro Arg Ser Arg Cys Leu
 25 30 35 40

tgt agg cag cac cgg ccc gtc cag cta tgt gca cct cat cgc acc tgc 197
 Cys Arg Gln His Arg Pro Val Gln Leu Cys Ala Pro His Arg Thr Cys
 45 50 55

cgg gag gcc ttg gat gtt ctg gcc aag aca gtg gcc ttc ctc agg aac 245
 Arg Glu Ala Leu Asp Val Leu Ala Lys Thr Val Ala Phe Leu Arg Asn
 60 65 70

ctg cca tcc ttc tgg cag ctg cct ccc cag gac cag cgg cgg ctg ctg Leu Pro Ser Phe Trp Gln Leu Pro Pro Gln Asp Gln Arg Arg Leu Leu 75 80 85	293
cag ggt tgc tgg ggc ccc ctc ttc ctg ctt ggg ttg gcc caa gat gct Gln Gly Cys Trp Gly Pro Leu Phe Leu Leu Gly Leu Ala Gln Asp Ala 90 95 100	341
gtg acc ttt gag gtg gct gag gcc ccg gtg ccc agc ata ctc aag aag Val Thr Phe Glu Val Ala Glu Ala Pro Val Pro Ser Ile Leu Lys Lys 105 110 115 120	389
att ctg ctg gag gag ccc agc agc agt gga ggc agt ggc caa ctg cca Ile Leu Leu Glu Glu Pro Ser Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gln Leu Pro 125 130 135	437
gac aga ccc cag ccc tcc ctg gct gcg gtg cag tgg ctt caa tgc tgt Asp Arg Pro Gln Pro Ser Leu Ala Ala Val Gln Trp Leu Gln Cys Cys 140 145 150	485
ctg gag tcc ttc tgg agc ctg gag ctt agc ccc aag gaa tat gcc tgc Leu Glu Ser Phe Trp Ser Leu Glu Leu Ser Pro Lys Glu Tyr Ala Cys 155 160 165	533
ctg aaa ggg acc atc ctc ttc aac ccc gat gtg cca ggc ctc caa gcc Leu Lys Gly Thr Ile Leu Phe Asn Pro Asp Val Pro Gly Leu Gln Ala 170 175 180	581
gcc tcc cac att ggg cac ctg cag cag gag gct cac tgg gtg ctg tgt Ala Ser His Ile Gly His Leu Gln Gln Glu Ala His Trp Val Leu Cys 185 190 195 200	629
gaa gtc ctg gaa ccc tgg tgc cca gca gcc caa ggc cgc ctg acc cgt Glu Val Leu Glu Pro Trp Cys Pro Ala Ala Gln Gly Arg Leu Thr Arg 205 210 215	677
gtc ctc ctc acg gcc tcc acc ctc aag tcc att ccg acc agc ctg ctt Val Leu Leu Thr Ala Ser Thr Leu Lys Ser Ile Pro Thr Ser Leu Leu 220 225 230	725
ggg gac ctc ttc ttt cgc cct atc att gga gat gtt gac atc gct ggc Gly Asp Leu Phe Phe Arg Pro Ile Ile Gly Asp Val Asp Ile Ala Gly 235 240 245	773
ctt ctt ggg gac atg ctt ttg ctc agg tgacctgttc cagcccaggc Leu Leu Gly Asp Met Leu Leu Leu Arg 250 255	820
agagatcagg tgggcagagg ctggcagtgc tgattcagcc tggccatccc cagaggtgac	880

ccaatgctcc tggaggggca agcctgtata gacagcactt ggctccttag gaacagctct 940
 tcactcagcc acaccccaca ttggacttcc ttggtttgga cacagtgctc cagctgcctg 1000
 ggaggctttt ggtgggtccc acagcctctg ggccaagact cctgtccctt cttgggatga 1060
 gaatgaaagc ttaggctgct tattggacca gaagtcctat cgactttata cagaactgaa 1120
 ttaagttatt gattttttgta ataaaaggta tgaaacacta aaaaaaaaa 1168

<210> 10
 <211> 257
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 10

Met Ser Thr Ser Gln Pro Gly Ala Cys Pro Cys Gln Gly Ala Ala Ser
 1 5 10 15

Arg Pro Ala Ile Leu Tyr Ala Leu Leu Ser Ser Ser Leu Lys Ala Val
 20 25 30

Pro Arg Pro Arg Ser Arg Cys Leu Cys Arg Gln His Arg Pro Val Gln
 35 40 45

Leu Cys Ala Pro His Arg Thr Cys Arg Glu Ala Leu Asp Val Leu Ala
 50 55 60

Lys Thr Val Ala Phe Leu Arg Asn Leu Pro Ser Phe Trp Gln Leu Pro
 65 70 75 80

Pro Gln Asp Gln Arg Arg Leu Leu Gln Gly Cys Trp Gly Pro Leu Phe
 85 90 95

Leu Leu Gly Leu Ala Gln Asp Ala Val Thr Phe Glu Val Ala Glu Ala
 100 105 110

Pro Val Pro Ser Ile Leu Lys Lys Ile Leu Leu Glu Glu Pro Ser Ser
 115 120 125

Ser Gly Gly Ser Gly Gln Leu Pro Asp Arg Pro Gln Pro Ser Leu Ala
 130 135 140

Ala Val Gln Trp Leu Gln Cys Cys Leu Glu Ser Phe Trp Ser Leu Glu
 145 150 155 160

Leu Ser Pro Lys Glu Tyr Ala Cys Leu Lys Gly Thr Ile Leu Phe Asn
 165 170 175

Pro Asp Val Pro Gly Leu Gln Ala Ala Ser His Ile Gly His Leu Gln
 180 185 190

Gln Glu Ala His Trp Val Leu Cys Glu Val Leu Glu Pro Trp Cys Pro
 195 200 205

Ala Ala Gln Gly Arg Leu Thr Arg Val Leu Leu Thr Ala Ser Thr Leu
 210 215 220

Lys Ser Ile Pro Thr Ser Leu Leu Gly Asp Leu Phe Phe Arg Pro Ile
 225 230 235 240

Ile Gly Asp Val Asp Ile Ala Gly Leu Leu Gly Asp Met Leu Leu Leu
 245 250 255

Arg

<210> 11
 <211> 489
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (43)..(423)

<400> 11

agagccgcag gtcagtcgtg aagagggagc tctattgccca cc atg agt ttc tcc 54
 Met Ser Phe Ser
 1

ggc aag tac caa ctg cag agc cag gaa aac ttt gaa gcc ttc atg aag 102
 Gly Lys Tyr Gln Leu Gln Ser Gln Glu Asn Phe Glu Ala Phe Met Lys
 5 10 15 20

gca atc ggt ctg ccg gaa gag ctc atc cag aag ggg aag gat atc aag 150
 Ala Ile Gly Leu Pro Glu Glu Leu Ile Gln Lys Gly Lys Asp Ile Lys
 25 30 35

ggg gtg tcg gaa atc gtg cag aat ggg aag cac ttc aag ttc acc atc 198
 Gly Val Ser Glu Ile Val Gln Asn Gly Lys His Phe Lys Phe Thr Ile
 40 45 50

acc gct ggg tcc aaa gtg atc caa aac gaa ttc acg gtg ggg gag gaa 246
 Thr Ala Gly Ser Lys Val Ile Gln Asn Glu Phe Thr Val Gly Glu Glu
 55 60 65

tgt gag ctg gag aca atg aca ggg gag aaa gtc aag aca gtg gtt cag 294
 Cys Glu Leu Glu Thr Met Thr Gly Glu Lys Val Lys Thr Val Val Gln
 70 75 80

ttg gaa ggt gac aat aaa ctg gtg aca act ttc aaa aac atc aag tct 342
 Leu Glu Gly Asp Asn Lys Leu Val Thr Thr Phe Lys Asn Ile Lys Ser
 85 90 95 100

gtg acc gaa ctc aac ggc gac ata atc acc aat acc atg aca ttg ggt 390
 Val Thr Glu Leu Asn Gly Asp Ile Ile Thr Asn Thr Met Thr Leu Gly
 105 110 115

gac att gtc ttc aag aga atc agc aag aga att taaacaagtc tgcatttcat 443
 Asp Ile Val Phe Lys Arg Ile Ser Lys Arg Ile
 120 125

attatttttag tgtgtaaaaat taatgtaata aagtgaactt tgtttt 489

<210> 12

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Ser Phe Ser Gly Lys Tyr Gln Leu Gln Ser Gln Glu Asn Phe Glu
 1 5 10 15

Ala Phe Met Lys Ala Ile Gly Leu Pro Glu Glu Leu Ile Gln Lys Gly
 20 25 30

Lys Asp Ile Lys Gly Val Ser Glu Ile Val Gln Asn Gly Lys His Phe
 35 40 45

Lys Phe Thr Ile Thr Ala Gly Ser Lys Val Ile Gln Asn Glu Phe Thr
 50 55 60

Val Gly Glu Glu Cys Glu Leu Glu Thr Met Thr Gly Glu Lys Val Lys
 65 70 75 80

Thr Val Val Gln Leu Glu Gly Asp Asn Lys Leu Val Thr Thr Phe Lys
 85 90 95

Asn Ile Lys Ser Val Thr Glu Leu Asn Gly Asp Ile Ile Thr Asn Thr
 100 105 110

Met Thr Leu Gly Asp Ile Val Phe Lys Arg Ile Ser Lys Arg Ile
 115 120 125

<210> 13
 <211> 1783
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (246)..(1496)

<220>
 <221> sig_peptide
 <222> (246)..(731)

<220>
 <221> mat_peptide
 <222> (732)..(1496)

<400> 13
 tcgagcccgcc ttccaggga ccctacctga gggcccacag gtgaggcagc ctggcctagc 60
 agggccacg ccaccgcctc tgcctccagg cgcggcgctg ctgcggggcc accatgctcc 120
 tgcccaggcc tggagactga cccgaccccg gcactacctc gaggtccgc cccacactgc 180

tggaccccag ggtccccaccc tggcccagga ggtcagccag ggaatcatta acaagaggca	240
gtgac atg gcg cag aag gag ggt ggc cgg act gtg cca tgc tgc tcc	287
Met Ala Gln Lys Glu Gly Gly Arg Thr Val Pro Cys Cys Ser	
-160 -155 -150	
aga ccc aag gtg gca gct ctc act gcg ggg acc ctg cta ctt ctg	332
Arg Pro Lys Val Ala Ala Leu Thr Ala Gly Thr Leu Leu Leu Leu	
-145 -140 -135	
aca gcc atc ggg gcg gca tcc tgg gcc att gtg gct gtt ctc ctc	377
Thr Ala Ile Gly Ala Ala Ser Trp Ala Ile Val Ala Val Leu Leu	
-130 -125 -120	
agg agt gac cag gag ccg ctg tac cca gtg cag gtc agc tct gcg	422
Arg Ser Asp Gln Glu Pro Leu Tyr Pro Val Gln Val Ser Ser Ala	
-115 -110 -105	
gac gct cgg ctc atg gtc ttt gac aag acg gaa ggg acg tgg cgg ctg	470
Asp Ala Arg Leu Met Val Phe Asp Lys Thr Glu Gly Thr Trp Arg Leu	
-100 -95 -90	
ctg tgc tcc tcg cgc tcc aac gcc agg gta gcc gga ctc agc tgc gag	518
Leu Cys Ser Ser Arg Ser Asn Ala Arg Val Ala Gly Leu Ser Cys Glu	
-85 -80 -75	
gag atg ggc ttc ctc agg gca ctg acc cac tcc gag ctg gac gtg cga	566
Glu Met Gly Phe Leu Arg Ala Leu Thr His Ser Glu Leu Asp Val Arg	
-70 -65 -60	
acg gcg ggc gcc aat ggc acg tcg ggc ttc ttc tgt gtg gac gag ggg	614
Thr Ala Gly Ala Asn Gly Thr Ser Gly Phe Phe Cys Val Asp Glu Gly	
-55 -50 -45 -40	
agg ctg ccc cac acc cag agg ctg ctg gag gtc atc tcc gtg tgt gat	662
Arg Leu Pro His Thr Gln Arg Leu Leu Glu Val Ile Ser Val Cys Asp	
-35 -30 -25	
tgc ccc aga ggc cgt ttc ttg gcc gcc atc tgc caa gac tgt ggc cgc	710
Cys Pro Arg Gly Arg Phe Leu Ala Ala Ile Cys Gln Asp Cys Gly Arg	
-20 -15 -10	
agg aag ctg ccc gtg gac cgc atc gtg gga ggc cgg gac acc agc ttg	758
Arg Lys Leu Pro Val Asp Arg Ile Val Gly Gly Arg Asp Thr Ser Leu	
-5 -1 1 5	
ggc cgg tgg ccg tgg caa gtc agc ctt cgc tat gat gga gca cac ctc	806
Gly Arg Trp Pro Trp Gln Val Ser Leu Arg Tyr Asp Gly Ala His Leu	
10 15 20 25	

tgt ggg gga tcc ctg ctc tcc ggg gac tgg gtg ctg aca gcc gcc cac Cys Gly Gly Ser Leu Leu Ser Gly Asp Trp Val Leu Thr Ala Ala His	854
30 35 40	
tgc ttc ccg gag cgg aac cgg gtc ctg tcc cga tgg cga gtg ttt gcc Cys Phe Pro Glu Arg Asn Arg Val Leu Ser Arg Trp Arg Val Phe Ala	902
45 50 55	
ggt gcc gtg gcc cag gcc tct ccc cac ggt ctg cag ctg ggg gtg cag Gly Ala Val Ala Gln Ala Ser Pro His Gly Leu Gln Leu Gly Val Gln	950
60 65 70	
gct gtg gtc tac cac ggg ggc tat ctt ccc ttt cgg gac ccc aac agc Ala Val Val Tyr His Gly Gly Tyr Leu Pro Phe Arg Asp Pro Asn Ser	998
75 80 85	
gag gag aac agc aac gat att gcc ctg gtc cac ctc tcc agt ccc ctg Glu Glu Asn Ser Asn Asp Ile Ala Leu Val His Leu Ser Ser Pro Leu	1046
90 95 100 105	
ccc ctc aca gaa tac atc cag cct gtg tgc ctc cca gct gcc ggc cag Pro Leu Thr Glu Tyr Ile Gln Pro Val Cys Leu Pro Ala Ala Gly Gln	1094
110 115 120	
gcc ctg gtg gat ggc aag atc tgt acc gtg acg ggc tgg ggc aac acg Ala Leu Val Asp Gly Lys Ile Cys Thr Val Thr Gly Trp Gly Asn Thr	1142
125 130 135	
cag tac tat ggc caa cag gcc ggg gta ctc cag gag gct cga gtc ccc Gln Tyr Tyr Gly Gln Gln Ala Gly Val Leu Gln Glu Ala Arg Val Pro	1190
140 145 150	
ata atc agc aat gat gtc tgc aat ggc gct gac ttc tat gga aac cag Ile Ile Ser Asn Asp Val Cys Asn Gly Ala Asp Phe Tyr Gly Asn Gln	1238
155 160 165	
atc aag ccc aag atg ttc tgt gct ggc tac ccc gag ggt ggc att gat Ile Lys Pro Lys Met Phe Cys Ala Gly Tyr Pro Glu Gly Gly Ile Asp	1286
170 175 180 185	
gcc tgc cag ggc gac agc ggt ggt ccc ttt gtg tgt gag gac agc atc Ala Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Phe Val Cys Glu Asp Ser Ile	1334
190 195 200	
tct cgg acg cca cgt tgg cgg ctg tgt ggc att gtg agt tgg ggc act Ser Arg Thr Pro Arg Trp Arg Leu Cys Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr	1382
205 210 215	
ggc tgt gcc ctg gcc cag aag cca ggc gtc tac acc aaa gtc agt gac Gly Cys Ala Leu Ala Gln Lys Pro Gly Val Tyr Thr Lys Val Ser Asp	1430

220	225	230	
ttc cgg gag tgg atc ttc cag gcc ata aag act cac tcc gaa gcc agc			1478
Phe Arg Glu Trp Ile Phe Gln Ala Ile Lys Thr His Ser Glu Ala Ser			
235	240	245	
ggc atg gtg acc cag ctc tgaccggtgg cttctcgctg cgcagcctcc			1526
Gly Met Val Thr Gln Leu			
250	255		
agggcccgag gtgatcccg tggtgggatc cacgctgggc cgaggatggg acgtttttct			1586
tcttgggccc ggtccacagg tccaaggaca ccctccctcc aggtcctct cttccacagt			1646
ggcggggccca ctcagccccc agaccaccca acctcacct cctgaccccc atgtaaatat			1706
tgttctgctg tctgggactc ctgtctaggt gccctgatg atgggatgct ctttaaataa			1766
taaagatggt tttgatt			1783

<210> 14
 <211> 417
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 14

Met Ala Gln Lys Glu Gly Gly Arg Thr Val Pro Cys Cys Ser Arg	
-160	-155 -150

Pro Lys Val Ala Ala Leu Thr Ala Gly Thr Leu Leu Leu Leu Thr	
-145	-140 -135

Ala Ile Gly Ala Ala Ser Trp Ala Ile Val Ala Val Leu Leu Arg	
-130	-125 -120

Ser Asp Gln Glu Pro Leu Tyr Pro Val Gln Val Ser Ser Ala Asp	
-115	-110 -105

Ala Arg Leu Met Val Phe Asp Lys Thr Glu Gly Thr Trp Arg Leu Leu	
-100	-95 -90

Cys Ser Ser Arg Ser Asn Ala Arg Val Ala Gly Leu Ser Cys Glu Glu	
-85	-80 -75

Met Gly Phe Leu Arg Ala Leu Thr His Ser Glu Leu Asp Val Arg Thr
-70 -65 -60 -55

Ala Gly Ala Asn Gly Thr Ser Gly Phe Phe Cys Val Asp Glu Gly Arg
-50 -45 -40

Leu Pro His Thr Gln Arg Leu Leu Glu Val Ile Ser Val Cys Asp Cys
-35 -30 -25

Pro Arg Gly Arg Phe Leu Ala Ala Ile Cys Gln Asp Cys Gly Arg Arg
-20 -15 -10

Lys Leu Pro Val Asp Arg Ile Val Gly Gly Arg Asp Thr Ser Leu Gly
-5 -1 1 5 10

Arg Trp Pro Trp Gln Val Ser Leu Arg Tyr Asp Gly Ala His Leu Cys
15 20 25

Gly Gly Ser Leu Leu Ser Gly Asp Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys
30 35 40

Phe Pro Glu Arg Asn Arg Val Leu Ser Arg Trp Arg Val Phe Ala Gly
45 50 55

Ala Val Ala Gln Ala Ser Pro His Gly Leu Gln Leu Gly Val Gln Ala
60 65 70

Val Val Tyr His Gly Gly Tyr Leu Pro Phe Arg Asp Pro Asn Ser Glu
75 80 85 90

Glu Asn Ser Asn Asp Ile Ala Leu Val His Leu Ser Ser Pro Leu Pro
95 100 105

Leu Thr Glu Tyr Ile Gln Pro Val Cys Leu Pro Ala Ala Gly Gln Ala
110 115 120

Leu Val Asp Gly Lys Ile Cys Thr Val Thr Gly Trp Gly Asn Thr Gln
125 130 135

Tyr Tyr Gly Gln Gln Ala Gly Val Leu Gln Glu Ala Arg Val Pro Ile
140 145 150

Ile Ser Asn Asp Val Cys Asn Gly Ala Asp Phe Tyr Gly Asn Gln Ile
155 160 165 170

Lys Pro Lys Met Phe Cys Ala Gly Tyr Pro Glu Gly Gly Ile Asp Ala
175 180 185

Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Phe Val Cys Glu Asp Ser Ile Ser
190 195 200

Arg Thr Pro Arg Trp Arg Leu Cys Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly
205 210 215

Cys Ala Leu Ala Gln Lys Pro Gly Val Tyr Thr Lys Val Ser Asp Phe
220 225 230

Arg Glu Trp Ile Phe Gln Ala Ile Lys Thr His Ser Glu Ala Ser Gly
235 240 245 250

Met Val Thr Gln Leu
255

<210> 15
<211> 1534
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (26)..(1324)

<220>
<221> sig_peptide
<222> (26)..(100)

<220>

<221> mat_peptide

<222> (101)..(1324)

<400> 15

ggaattccct ggagcagagt tgaga atg gag aga atg tta cct ctc ctg gct 52
 Met Glu Arg Met Leu Pro Leu Leu Ala
 -25 -20

ctg ggg ctc ttg gcg gct ggg ttc tgc cct gct gtc ctc tgc cac cct 100
 Leu Gly Leu Leu Ala Ala Gly Phe Cys Pro Ala Val Leu Cys His Pro
 -15 -10 -5 -1

aac agc cca ctt gac gag gag aat ctg acc cag gag aac caa gac cga 148
 Asn Ser Pro Leu Asp Glu Glu Asn Leu Thr Gln Glu Asn Gln Asp Arg
 1 5 10 15

ggg aca cac gtg gac ctc gga tta gcc tcc gcc aac gtg gac ttc gct 196
 Gly Thr His Val Asp Leu Gly Leu Ala Ser Ala Asn Val Asp Phe Ala
 20 25 30

ttc agc ctg tac aag cag tta gtc ctg aag gcc ctt gat aag aat gtc 244
 Phe Ser Leu Tyr Lys Gln Leu Val Leu Lys Ala Leu Asp Lys Asn Val
 35 40 45

atc ttc tcc cca ctg agc atc tcc acc gcc ttg gcc ttc ctg tct ctg 292
 Ile Phe Ser Pro Leu Ser Ile Ser Thr Ala Leu Ala Phe Leu Ser Leu
 50 55 60

ggg gcc cat aat acc acc ctg aca gag att ctc aag gcc tcg agt tca 340
 Gly Ala His Asn Thr Thr Leu Thr Glu Ile Leu Lys Ala Ser Ser Ser
 65 70 75 80

cct cac gga gac tta ctg agg cag aaa ttc act cag agc ttc cag cac 388
 Pro His Gly Asp Leu Leu Arg Gln Lys Phe Thr Gln Ser Phe Gln His
 85 90 95

ctc cgc gca ccc tca atc agt tcc agc gat gag ctg cag ctg agt atg 436
 Leu Arg Ala Pro Ser Ile Ser Ser Ser Asp Glu Leu Gln Leu Ser Met
 100 105 110

gga aat gcc atg ttt gtc aaa gag caa ctc agt ctg ctg gac agg ttc 484
 Gly Asn Ala Met Phe Val Lys Glu Gln Leu Ser Leu Leu Asp Arg Phe
 115 120 125

acg gag gat gcc aag agg ctg tat ggc tcc gag gcc ttt gcc act gac 532
 Thr Glu Asp Ala Lys Arg Leu Tyr Gly Ser Glu Ala Phe Ala Thr Asp
 130 135 140

ttt cag gac tca gct gca gct aag aag ctc atc aac gac tac gtg aag 580

Phe Gln Asp Ser Ala Ala Ala Lys Lys Leu Ile Asn Asp Tyr Val Lys 145 150 155 160	
aat gga act agg ggg aaa atc aca gat ctg atc aag gac ccc gac tcg Asn Gly Thr Arg Gly Lys Ile Thr Asp Leu Ile Lys Asp Pro Asp Ser 165 170 175	628
cag aca atg atg gtc ctg gtg aat tac atc ttc ttt aaa gcc aaa tgg Gln Thr Met Met Val Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Ala Lys Trp 180 185 190	676
gag atg ccc ttt gac ccc caa gat act cat cag tca agg ttc tac ttg Glu Met Pro Phe Asp Pro Gln Asp Thr His Gln Ser Arg Phe Tyr Leu 195 200 205	724
agc aag aaa aag tgg gta atg gtg ccc atg atg agt ttg cat cac ctg Ser Lys Lys Lys Trp Val Met Val Pro Met Met Ser Leu His His Leu 210 215 220	772
act ata cct tac ttc cgg gac gag gag ctg tcc tgc acc gtg gtg gag Thr Ile Pro Tyr Phe Arg Asp Glu Glu Leu Ser Cys Thr Val Val Glu 225 230 235 240	820
ctg aag tac aca ggc aat gcc agc gca ctc ttc atc ctc cct gat caa Leu Lys Tyr Thr Gly Asn Ala Ser Ala Leu Phe Ile Leu Pro Asp Gln 245 250 255	868
gac aag atg gag gaa gtg gaa gcc atg ctg ctc cca gag acc ctg aag Asp Lys Met Glu Glu Val Glu Ala Met Leu Leu Pro Glu Thr Leu Lys 260 265 270	916
cgg tgg aga gac tct ctg gag ttc aga gag ata ggt gag ctc tac ctg Arg Trp Arg Asp Ser Leu Glu Phe Arg Glu Ile Gly Glu Leu Tyr Leu 275 280 285	964
cca aag ttt tcc atc tcg agg gac tat aac ctg aac gac ata ctt ctc Pro Lys Phe Ser Ile Ser Arg Asp Tyr Asn Leu Asn Asp Ile Leu Leu 290 295 300	1012
cag ctg ggc att gag gaa gcc ttc acc agc aag gct gac ctg tca ggg Gln Leu Gly Ile Glu Glu Ala Phe Thr Ser Lys Ala Asp Leu Ser Gly 305 310 315 320	1060
atc aca ggg gcc agg aac cta gca gtc tcc cag gtg gtc cat aag gtc Ile Thr Gly Ala Arg Asn Leu Ala Val Ser Gln Val Val His Lys Val 325 330 335	1108
gtg tct gat gta ttt gag gag ggc aca gaa gca tct gct gcc aca gca Val Ser Asp Val Phe Glu Glu Gly Thr Glu Ala Ser Ala Ala Thr Ala 340 345 350	1156

gtc aaa atc acc ctc ctt tct gca tta gtg gag aca agg acc att gtg 1204
 Val Lys Ile Thr Leu Leu Ser Ala Leu Val Glu Thr Arg Thr Ile Val
 355 360 365

cgt ttc aac agg ccc ttc ctg atg atc att gtc cct aca gac acc cag 1252
 Arg Phe Asn Arg Pro Phe Leu Met Ile Ile Val Pro Thr Asp Thr Gln
 370 375 380

aac atc ttc ttc atg agc aaa gtc acc aat ccc agc aag cct aga gct 1300
 Asn Ile Phe Phe Met Ser Lys Val Thr Asn Pro Ser Lys Pro Arg Ala
 385 390 395 400

tgc atc aag cag tgg ggc tct cag taaggaactt ggaatgcaag ctggatgcct 1354
 Cys Ile Lys Gln Trp Gly Ser Gln
 405

gggtctctgg gcacagctgg cccctgtgca ccgtagtggc catggcatgt gtggccctgt 1414

ctgcttatcc ttggaagggtg acagcgattc cctgtgaagc tctcacacgc acaggggccc 1474

atggactctt cagtctggag ggtcctggcc tcctgacagc aataaataat ttcgttggcc 1534

<210> 16

<211> 433

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Met Glu Arg Met Leu Pro Leu Leu Ala Leu Gly Leu Leu Ala Ala Gly
 -25 -20 -15 -10

Phe Cys Pro Ala Val Leu Cys His Pro Asn Ser Pro Leu Asp Glu Glu
 -5 -1 1 5

Asn Leu Thr Gln Glu Asn Gln Asp Arg Gly Thr His Val Asp Leu Gly
 10 15 20

Leu Ala Ser Ala Asn Val Asp Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Lys Gln Leu
 25 30 35

Val Leu Lys Ala Leu Asp Lys Asn Val Ile Phe Ser Pro Leu Ser Ile
 40 45 50 55

Ser Thr Ala Leu Ala Phe Leu Ser Leu Gly Ala His Asn Thr Thr Leu
60 65 70

Thr Glu Ile Leu Lys Ala Ser Ser Ser Pro His Gly Asp Leu Leu Arg
75 80 85

Gln Lys Phe Thr Gln Ser Phe Gln His Leu Arg Ala Pro Ser Ile Ser
90 95 100

Ser Ser Asp Glu Leu Gln Leu Ser Met Gly Asn Ala Met Phe Val Lys
105 110 115

Glu Gln Leu Ser Leu Leu Asp Arg Phe Thr Glu Asp Ala Lys Arg Leu
120 125 130 135

Tyr Gly Ser Glu Ala Phe Ala Thr Asp Phe Gln Asp Ser Ala Ala Ala
140 145 150

Lys Lys Leu Ile Asn Asp Tyr Val Lys Asn Gly Thr Arg Gly Lys Ile
155 160 165

Thr Asp Leu Ile Lys Asp Pro Asp Ser Gln Thr Met Met Val Leu Val
170 175 180

Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Ala Lys Trp Glu Met Pro Phe Asp Pro Gln
185 190 195

Asp Thr His Gln Ser Arg Phe Tyr Leu Ser Lys Lys Lys Trp Val Met
200 205 210 215

Val Pro Met Met Ser Leu His His Leu Thr Ile Pro Tyr Phe Arg Asp
220 225 230

Glu Glu Leu Ser Cys Thr Val Val Glu Leu Lys Tyr Thr Gly Asn Ala
235 240 245

Ser Ala Leu Phe Ile Leu Pro Asp Gln Asp Lys Met Glu Glu Val Glu

250

255

260

Ala Met Leu Leu Pro Glu Thr Leu Lys Arg Trp Arg Asp Ser Leu Glu
265 270 275

Phe Arg Glu Ile Gly Glu Leu Tyr Leu Pro Lys Phe Ser Ile Ser Arg
280 285 290 295

Asp Tyr Asn Leu Asn Asp Ile Leu Leu Gln Leu Gly Ile Glu Glu Ala
300 305 310

Phe Thr Ser Lys Ala Asp Leu Ser Gly Ile Thr Gly Ala Arg Asn Leu
315 320 325

Ala Val Ser Gln Val Val His Lys Val Val Ser Asp Val Phe Glu Glu
330 335 340

Gly Thr Glu Ala Ser Ala Ala Thr Ala Val Lys Ile Thr Leu Leu Ser
345 350 355

Ala Leu Val Glu Thr Arg Thr Ile Val Arg Phe Asn Arg Pro Phe Leu
360 365 370 375

Met Ile Ile Val Pro Thr Asp Thr Gln Asn Ile Phe Phe Met Ser Lys
380 385 390

Val Thr Asn Pro Ser Lys Pro Arg Ala Cys Ile Lys Gln Trp Gly Ser
395 400 405

Gln

<210> 17

<211> 2008

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (222).. (857)

<400> 17

tgggacactg ctcaggggaag agcctgctac ggtggactgt gagactcagt gcactgtcct	60
cctcccagcg accccacgct ggaccccctg ccggaccctc cacccttcgg cccccaagct	120
tcccaggggc ttcctttgga ctggactgtc cctgctcatc cattctcctg ccacccccag	180
acctcctcag ctccaggttg ccacctcctc tcgccagagt g atg agg tcc cgg ctt	236
Met Arg Ser Arg Leu	
1 5	
ctg ctc tcc gtg gcc cat ctg ccc aca att cgg gag acc acg gag gag	284
Leu Leu Ser Val Ala His Leu Pro Thr Ile Arg Glu Thr Thr Glu Glu	
10 15 20	
atg ctg ctt ggg ggt cct gga cag gag ccc cca ccc tct cct agc ctg	332
Met Leu Leu Gly Gly Pro Gly Gln Glu Pro Pro Pro Ser Pro Ser Leu	
25 30 35	
gat gac tac gtg agg tct ata tct cga ctg gca cag ccc acc tct gtg	380
Asp Asp Tyr Val Arg Ser Ile Ser Arg Leu Ala Gln Pro Thr Ser Val	
40 45 50	
ctg gac aag gcc acg gcc cag ggc caa ccc agg cca ccc cac agg cca	428
Leu Asp Lys Ala Thr Ala Gln Gly Gln Pro Arg Pro Pro His Arg Pro	
55 60 65	
gcc cag gcc tgc cgg aag ggc cgc cct gct gtg tcc ctg cga gac atc	476
Ala Gln Ala Cys Arg Lys Gly Arg Pro Ala Val Ser Leu Arg Asp Ile	
70 75 80 85	
acc gca cgt ttc agt ggc cag cag ccc aca ctg ccc atg gct gat act	524
Thr Ala Arg Phe Ser Gly Gln Gln Pro Thr Leu Pro Met Ala Asp Thr	
90 95 100	
gtg gac ccc ctg gac tgg ctt ttt ggg gag tcc cag gaa aag cag cca	572
Val Asp Pro Leu Asp Trp Leu Phe Gly Glu Ser Gln Glu Lys Gln Pro	
105 110 115	
agc cag agg gac ctg cca agg agg act ggc ccc tct gct ggc ctc tgg	620
Ser Gln Arg Asp Leu Pro Arg Arg Thr Gly Pro Ser Ala Gly Leu Trp	
120 125 130	
ggt cca cat aga cag atg gac agc agc aag ccc acg ggg gcc ccc aga	668
Gly Pro His Arg Gln Met Asp Ser Ser Lys Pro Thr Gly Ala Pro Arg	
135 140 145	

ggg agg ctc tgt gaa gcc agg atg cct ggg cat tcc ctg gca aga cca Gly Arg Leu Cys Glu Ala Arg Met Pro Gly His Ser Leu Ala Arg Pro 150 155 160 165	716
ccg cag gat ggg cag cag agc tct gac cta aga agc tgg act ttt ggg Pro Gln Asp Gly Gln Gln Ser Ser Asp Leu Arg Ser Trp Thr Phe Gly 170 175 180	764
cag tct gcc caa gcc atg gcc tcc cgc cac cgc ccc cgc ccc agc agt Gln Ser Ala Gln Ala Met Ala Ser Arg His Arg Pro Arg Pro Ser Ser 185 190 195	812
gtc ctc aga aca ctc tac tcg cac ctc ccg gtg atc cat gaa ctc Val Leu Arg Thr Leu Tyr Ser His Leu Pro Val Ile His Glu Leu 200 205 210	857
tgaccctcc ccagtaaagg ctctctgtaga gagcatgctg ggtctgcatc tcctctcgtc	917
tcctccatgg tggctactgc ccctggcagg tctctgaaag ggaaatgctt ttctgcggag	977
gcccctgctt gggcagttca cagtgagacc gacccctct gaatatgata acagcctggt	1037
tcacatgagg agatgttacc aatcccgttc gctctgacct ttgctggctg atcaccttga	1097
gcaacttact taacatctgt gttcctcagt ttctcatggg taatataggg ataattactg	1157
gcacctgcct ccagggccat tctgacgtgt aaccgcatat aggagccac tggctgagta	1217
gctaccatca tcgctggtgg ggaaactggt ggtaggggtg tgagggtagt gggggtgtca	1277
gccccccagg tgtttcagaa caaggcctcg ggcaactcca agtctgcctc ttggctccca	1337
ccctcaaagc ccatgttctg cgaggcccaa gagaacacat ggagtcttag caaatgcact	1397
aatgtattcc gggggactgt cacctggcac cactggggca ctctgctggc tacaactcat	1457
acgtcctgtg gtggcattgg gagagtcccc ccatgatgag ggccaagata gaatctgtac	1517
cactcagtgc taccatcccc accctacac cacttccaca caggggcctc atggcatggt	1577
cagggctcca gctgtaggtg agagcagggc actgtccagc tgtccactgg ggaagtcaag	1637
atgtcctaag gcccaggtca gggcatctgg agtctgaagg accctagtct ctagaggcat	1697
ctggcagcaa gaaggtagg catcagggaa cggaatcag gctgggactg atcagaggtg	1757
aagggacaga gagaggagag gaggaagatt gagctggggg caacagccaa gctcacctgg	1817
gcaggtctct gccacctcct tgctctgtga gctgtcagtc taggttattc tctttttttg	1877

tggctatattt taattgcttt ggatttggtta aatgttttct gtcttctgtt aagtgtgttt 1937

tctctggaga tagaatgtaa accatattaa aaggaaaaag tttcagacaa gcaaaaaaaaa 1997

aaaaaaaaa a 2008

<210> 18

<211> 212

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Met Arg Ser Arg Leu Leu Leu Ser Val Ala His Leu Pro Thr Ile Arg
1 5 10 15

Glu Thr Thr Glu Glu Met Leu Leu Gly Gly Pro Gly Gln Glu Pro Pro
20 25 30

Pro Ser Pro Ser Leu Asp Asp Tyr Val Arg Ser Ile Ser Arg Leu Ala
35 40 45

Gln Pro Thr Ser Val Leu Asp Lys Ala Thr Ala Gln Gly Gln Pro Arg
50 55 60

Pro Pro His Arg Pro Ala Gln Ala Cys Arg Lys Gly Arg Pro Ala Val
65 70 75 80

Ser Leu Arg Asp Ile Thr Ala Arg Phe Ser Gly Gln Gln Pro Thr Leu
85 90 95

Pro Met Ala Asp Thr Val Asp Pro Leu Asp Trp Leu Phe Gly Glu Ser
100 105 110

Gln Glu Lys Gln Pro Ser Gln Arg Asp Leu Pro Arg Arg Thr Gly Pro
115 120 125

Ser Ala Gly Leu Trp Gly Pro His Arg Gln Met Asp Ser Ser Lys Pro
130 135 140

Thr Gly Ala Pro Arg Gly Arg Leu Cys Glu Ala Arg Met Pro Gly His
145 150 155 160

Ser Leu Ala Arg Pro Pro Gln Asp Gly Gln Gln Ser Ser Asp Leu Arg
165 170 175

Ser Trp Thr Phe Gly Gln Ser Ala Gln Ala Met Ala Ser Arg His Arg
180 185 190

Pro Arg Pro Ser Ser Val Leu Arg Thr Leu Tyr Ser His Leu Pro Val
195 200 205

Ile His Glu Leu
210

<210> 19
<211> 1649
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (367)..(1068)

<400> 19
agcagagcggg gccagcgctg cagaaggcgg cggctggctc tccgggacgg tcacatcccg 60
ctgcagggggc gggcggaggc cgccgcactg cctccgcac cggggaccca ggccagcgctc 120
cgggcaacgc cccctgctcc cggacagact ccgtggcccg ctcgagccct gggggctccg 180
cagacccgcg cccgctccgc ccgcagctcg gccccgcgct gcccgcgtcg ccgggcccgc 240
gccgggatgg ggtaggggca gcgccaccga gtcgggcgat gggccgccct ctgggcaccg 300
agcagccccc cgaggcctga ccaaccgcga ggaccggcgg aggagccccg cctggatgtc 360
aagcgg atg cca agc gga tgc cac agt tcc ccc ccc agc gga ctc cgt 408
Met Pro Ser Gly Cys His Ser Ser Pro Pro Ser Gly Leu Arg
1 5 10

ggg gac atg gct tcg ctg gtg ccc ctt tcc cca tat cta agc ccc acg 456
Gly Asp Met Ala Ser Leu Val Pro Leu Ser Pro Tyr Leu Ser Pro Thr
15 20 25 30

gtc ctc ctg ctg gtc agc tgt gac ctg ggc ttc gtg cga gca gac cgg 504
 Val Leu Leu Leu Val Ser Cys Asp Leu Gly Phe Val Arg Ala Asp Arg
 35 40 45

cct ccc tct cct gtg aat gtg acg gtc act cac ctc aga gcc aac tcg 552
 Pro Pro Ser Pro Val Asn Val Thr Val Thr His Leu Arg Ala Asn Ser
 50 55 60

gcc act gtg tcc tgg gac gtc cca gaa ggc aac atc gtc att ggc tac 600
 Ala Thr Val Ser Trp Asp Val Pro Glu Gly Asn Ile Val Ile Gly Tyr
 65 70 75

tcc att tcc cag caa cgg cag aat ggc ccc ggg cag cgt gtg att cgg 648
 Ser Ile Ser Gln Gln Arg Gln Asn Gly Pro Gly Gln Arg Val Ile Arg
 80 85 90

gag gtg aac acc acc acc cgg gcc tgt gcc ctc tgg ggc ctg gct gaa 696
 Glu Val Asn Thr Thr Thr Arg Ala Cys Ala Leu Trp Gly Leu Ala Glu
 95 100 105 110

gac agt gac tac aca gtg cag gtc agg agc atc ggc ctt cgg gga gag 744
 Asp Ser Asp Tyr Thr Val Gln Val Arg Ser Ile Gly Leu Arg Gly Glu
 115 120 125

agt ccc cca ggg ccc cgg gtg cac ttc cga act ctc aag ggt tct gac 792
 Ser Pro Pro Gly Pro Arg Val His Phe Arg Thr Leu Lys Gly Ser Asp
 130 135 140

cgg cta cct tca aac agt tca agc cca ggt gac atc aca gtg gaa ggt 840
 Arg Leu Pro Ser Asn Ser Ser Ser Pro Gly Asp Ile Thr Val Glu Gly
 145 150 155

ctg gat gga gag cgg cca ctg cag act ggg gaa gtg gtc atc att gtg 888
 Leu Asp Gly Glu Arg Pro Leu Gln Thr Gly Glu Val Val Ile Ile Val
 160 165 170

gtg gtg ttg ctc atg tgg gct gct gta att ggg ctg ttc tgc cgt cag 936
 Val Val Leu Leu Met Trp Ala Ala Val Ile Gly Leu Phe Cys Arg Gln
 175 180 185 190

tat gac atc atc aag gac aat gac tcc aac aac aat ccc aag gag aag 984
 Tyr Asp Ile Ile Lys Asp Asn Asp Ser Asn Asn Asn Pro Lys Glu Lys
 195 200 205

gga aag ggg ccg gaa cag agt cct cag gga agg cca gtg ggg aca aga 1032
 Gly Lys Gly Pro Glu Gln Ser Pro Gln Gly Arg Pro Val Gly Thr Arg
 210 215 220

cag aaa aag tca cca tct atc aac acc atc gac gtt tgagtgaaga 1078

Gln Lys Lys Ser Pro Ser Ile Asn Thr Ile Asp Val
225 230

aacacaccca gaagagagat gcactaaca ctggggatag ggatggggtc agggggagcc 1138
caagatggtg atctgcccga gactcccaga gggtaatgcc actcccacaa tctcaggcct 1198
ggtacccatc ctctttccac tgtgagcaga gccagaaggt aggtctgttc agagtctgtg 1258
cccctggacc tggggagtgg atatcagatg ggatatctcc ttccattccc cgggccaggg 1318
gagagtcact agttgtaccc tactccatta ggtcccaa at gggggcccca tttcacctgt 1378
atcaggactc tgagcatccc cagctgcccc acatcttgcc tctggccctc agagaggggt 1438
gtttctgtgg gtactcctct taccacagca aataaaagga attgtctgac cctagaggca 1498
gatgctgcac tgcactactc caatgtcttc catggagcct caggtgctcc ccctctcacc 1558
tggcagcccc ttcagctgct agtgatatca cttgttggac atttttccaa taaaggttct 1618
tggacaaact ggaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 1649

<210> 20
<211> 234
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 20

Met Pro Ser Gly Cys His Ser Ser Pro Pro Ser Gly Leu Arg Gly Asp
1 5 10 15

Met Ala Ser Leu Val Pro Leu Ser Pro Tyr Leu Ser Pro Thr Val Leu
20 25 30

Leu Leu Val Ser Cys Asp Leu Gly Phe Val Arg Ala Asp Arg Pro Pro
35 40 45

Ser Pro Val Asn Val Thr Val Thr His Leu Arg Ala Asn Ser Ala Thr
50 55 60

Val Ser Trp Asp Val Pro Glu Gly Asn Ile Val Ile Gly Tyr Ser Ile
65 70 75 80

Ser Gln Gln Arg Gln Asn Gly Pro Gly Gln Arg Val Ile Arg Glu Val
85 90 95

Asn Thr Thr Thr Arg Ala Cys Ala Leu Trp Gly Leu Ala Glu Asp Ser
100 105 110

Asp Tyr Thr Val Gln Val Arg Ser Ile Gly Leu Arg Gly Glu Ser Pro
115 120 125

Pro Gly Pro Arg Val His Phe Arg Thr Leu Lys Gly Ser Asp Arg Leu
130 135 140

Pro Ser Asn Ser Ser Ser Pro Gly Asp Ile Thr Val Glu Gly Leu Asp
145 150 155 160

Gly Glu Arg Pro Leu Gln Thr Gly Glu Val Val Ile Ile Val Val Val
165 170 175

Leu Leu Met Trp Ala Ala Val Ile Gly Leu Phe Cys Arg Gln Tyr Asp
180 185 190

Ile Ile Lys Asp Asn Asp Ser Asn Asn Asn Pro Lys Glu Lys Gly Lys
195 200 205

Gly Pro Glu Gln Ser Pro Gln Gly Arg Pro Val Gly Thr Arg Gln Lys
210 215 220

Lys Ser Pro Ser Ile Asn Thr Ile Asp Val
225 230

<210> 21
<211> 3915
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (243)..(1730)

<400> 21
 gtgggggtggg gtgggggctgg gggcttgtcg ccctttcagg ctccaccctt tgcggagatt 60
 ataaatagtc atgatcccag cgagaccag agatgcctgt aatggtgaga ctttggatcc 120
 ttcttgagga cgtggagaaa actttctgct gagaaggaca ttttgaaggt tttgttggct 180
 gaaaaagctg tttctggaat caccctaga tctttcttga agacttgaat tagattacag 240
 cg atg ggg aca cag aag gtc acc cca gct ctg ata ttt gcc atc aca 287
 Met Gly Thr Gln Lys Val Thr Pro Ala Leu Ile Phe Ala Ile Thr
 1 5 10 15
 gtt gct aca atc ggc tct ttc caa ttt ggc tac aac act ggg gtc atc 335
 Val Ala Thr Ile Gly Ser Phe Gln Phe Gly Tyr Asn Thr Gly Val Ile
 20 25 30
 aat gct cct gag aag atc ata aag gaa ttt atc aat aaa act ttg acg 383
 Asn Ala Pro Glu Lys Ile Ile Lys Glu Phe Ile Asn Lys Thr Leu Thr
 35 40 45
 gac aag gga aat gcc cca ccc tct gag gtg ctg ctc acg tct ctc tgg 431
 Asp Lys Gly Asn Ala Pro Pro Ser Glu Val Leu Leu Thr Ser Leu Trp
 50 55 60
 tcc ttg tct gtg gcc ata ttt tcc gtc ggg ggt atg atc ggc tcc ttt 479
 Ser Leu Ser Val Ala Ile Phe Ser Val Gly Gly Met Ile Gly Ser Phe
 65 70 75
 tcc gtc gga ctc ttc gtc aac cgc ttt ggc agg cgc aat tca atg ctg 527
 Ser Val Gly Leu Phe Val Asn Arg Phe Gly Arg Arg Asn Ser Met Leu
 80 85 90 95
 att gtc aac ctg ttg gct gtc act ggt ggc tgc ttt atg gga ctg tgt 575
 Ile Val Asn Leu Leu Ala Val Thr Gly Gly Cys Phe Met Gly Leu Cys
 100 105 110
 aaa gta gct aag tcg gtt gaa atg ctg atc ctg ggt cgc ttg gtt att 623
 Lys Val Ala Lys Ser Val Glu Met Leu Ile Leu Gly Arg Leu Val Ile
 115 120 125
 ggc ctc ttc tgc gga ctc tgc aca ggt ttt gtg ccc atg tac att gga 671
 Gly Leu Phe Cys Gly Leu Cys Thr Gly Phe Val Pro Met Tyr Ile Gly
 130 135 140
 gag atc tcg cct act gcc ctg cgg ggt gcc ttt ggc act ctc aac cag 719
 Glu Ile Ser Pro Thr Ala Leu Arg Gly Ala Phe Gly Thr Leu Asn Gln
 145 150 155

ctg ggc atc gtt gtt gga att ctg gtg gcc cag atc ttt ggt ctg gaa	767
Leu Gly Ile Val Val Gly Ile Leu Val Ala Gln Ile Phe Gly Leu Glu	
160 165 170 175	
ttc atc ctt ggg tct gaa gag cta tgg ccg ctg cta ctg ggt ttt acc	815
Phe Ile Leu Gly Ser Glu Glu Leu Trp Pro Leu Leu Leu Gly Phe Thr	
180 185 190	
atc ctt cct gct atc cta caa agt gca gcc ctt cca ttt tgc cct gaa	863
Ile Leu Pro Ala Ile Leu Gln Ser Ala Ala Leu Pro Phe Cys Pro Glu	
195 200 205	
agt ccc aga ttt ttg ctc att aac aga aaa gaa gag gag aat gct aag	911
Ser Pro Arg Phe Leu Leu Ile Asn Arg Lys Glu Glu Glu Asn Ala Lys	
210 215 220	
cag atc ctc cag cgg ttg tgg ggc acc cag gat gta tcc caa gac atc	959
Gln Ile Leu Gln Arg Leu Trp Gly Thr Gln Asp Val Ser Gln Asp Ile	
225 230 235	
cag gag atg aaa gat gag agt gca agg atg tca caa gaa aag caa gtc	1007
Gln Glu Met Lys Asp Glu Ser Ala Arg Met Ser Gln Glu Lys Gln Val	
240 245 250 255	
acc gtg cta gag ctc ttt aga gtg tcc agc tac cga cag ccc atc atc	1055
Thr Val Leu Glu Leu Phe Arg Val Ser Ser Tyr Arg Gln Pro Ile Ile	
260 265 270	
att tcc att gtg ctc cag ctc tct cag cag ctc tct ggg atc aat gct	1103
Ile Ser Ile Val Leu Gln Leu Ser Gln Gln Leu Ser Gly Ile Asn Ala	
275 280 285	
gtg ttc tat tac tca aca gga atc ttc aag gat gca ggt gtt caa gag	1151
Val Phe Tyr Tyr Ser Thr Gly Ile Phe Lys Asp Ala Gly Val Gln Glu	
290 295 300	
ccc atc tat gcc acc atc ggc gcg ggt gtg gtt aat act atc ttc act	1199
Pro Ile Tyr Ala Thr Ile Gly Ala Gly Val Val Asn Thr Ile Phe Thr	
305 310 315	
gta gtt tct cta ttt ctg gtg gaa agg gca gga aga agg act ctg cat	1247
Val Val Ser Leu Phe Leu Val Glu Arg Ala Gly Arg Arg Thr Leu His	
320 325 330 335	
atg ata ggc ctt gga ggg atg gct ttt tgt tcc acg ctc atg act gtt	1295
Met Ile Gly Leu Gly Gly Met Ala Phe Cys Ser Thr Leu Met Thr Val	
340 345 350	
tct ttg tta tta aag gat aac tat aat ggg atg agc ttt gtc tgt att	1343
Ser Leu Leu Leu Lys Asp Asn Tyr Asn Gly Met Ser Phe Val Cys Ile	

355	360	365	
ggg gct atc ttg gtc ttt gta gcc ttc ttt gaa att gga cca ggc ccc Gly Ala Ile Leu Val Phe Val Ala Phe Phe Glu Ile Gly Pro Gly Pro 370 375 380			1391
att ccc tgg ttt att gtg gcc gaa ctc ttc agc cag ggc ccc cgc cca Ile Pro Trp Phe Ile Val Ala Glu Leu Phe Ser Gln Gly Pro Arg Pro 385 390 395			1439
gct gcg atg gca gtg gcc ggc tgc tcc aac tgg acc tcc aac ttc cta Ala Ala Met Ala Val Ala Gly Cys Ser Asn Trp Thr Ser Asn Phe Leu 400 405 410 415			1487
gtc gga ttg ctc ttc ccc tcc gct gct cac tat tta gga gcc tac gtt Val Gly Leu Leu Phe Pro Ser Ala Ala His Tyr Leu Gly Ala Tyr Val 420 425 430			1535
ttt att atc ttc acc ggc ttc ctc att acc ttc ttg gct ttt acc ttc Phe Ile Ile Phe Thr Gly Phe Leu Ile Thr Phe Leu Ala Phe Thr Phe 435 440 445			1583
ttc aaa gtc cct gag acc cgt ggc agg act ttt gag gat atc aca cgg Phe Lys Val Pro Glu Thr Arg Gly Arg Thr Phe Glu Asp Ile Thr Arg 450 455 460			1631
gcc ttt gaa ggg cag gca cac ggt gca gat aga tct gga aag gac ggc Ala Phe Glu Gly Gln Ala His Gly Ala Asp Arg Ser Gly Lys Asp Gly 465 470 475			1679
gtc atg gag atg aac agc atc gag cct gct aag gag acc acc acc aat Val Met Glu Met Asn Ser Ile Glu Pro Ala Lys Glu Thr Thr Thr Asn 480 485 490 495			1727
gtc taagtcgtgc ctccttccac ctccctcccg gcatgggaaa gccacctctc Val			1780
cctcaacaag ggagagacct catcaggatg aaccaggac gcttctgaat gctgctactt			1840
aattcctttc tcatcccacg cactccatga gcacccaag gctgcggttt gttggatctt			1900
caatggcttt ttaaatttta tttcctggac atcctcttct gcttaggaga gaccgagtga			1960
acctaccttc atttcaggag ggattggccg cttggcacat gacaactttg ccagcttttc			2020
ctcccttggg ttctgatatt gccgcactag gggatatagg agaggaaaag taaggtgcag			2080
ttccccaac ctcagactta ccaggaagca gatacatatg agtgtggaag ccggagggtg			2140

tttatgtaag agcaccttcc tcacttccat acagctctac gtggcaaatt aacttgagtt 2200
ttatattttt tatectctgg tttaattaca taattttttt ttttttactt taagtttcag 2260
gatacatgtg ccgaatgtgc aggtttgtta cataggtata tatatgccat gatggaaata 2320
tttatTTTTT taagcgtaat ttgccaaat aataaaaaca gaaggaaatt gagattagag 2380
ggaggtgttt aaagagaggt tatagagtag aagatttgat gctggagagg ttaagggtgca 2440
ataagaattt agggagaaat gttgttcatt attggagggt aatgatgtg gtgcctgagg 2500
tctgtacgtt acctcttaac aatttctgtc cttcagatgg aaactcttta acttctcgta 2560
aaagtcatat acctatataa taaagctact gatttccttg gagctttttt ctttaagata 2620
atagtttaca tgtagtagta cttgaaatct aggattatta actaatatgg gcattgtagt 2680
taatgatggt tgatgggttc taattttggg tggagtccag ggaagagaaa gtgatttcta 2740
gaaagcctgt tcccctcact ggatgaaata actccttctt gtagtagtct cattactttt 2800
gaagtaatcc cgccacctat ctctgtgggag agccatccaa ataagaaacc taaaataatt 2860
ggttcttggt agagattcat tatttttcca ctttgttctt taggagattt taggtgttga 2920
ttttctgttg tattttaact cataccttta aaggaattcc ccaaagaatg tttatagcaa 2980
acttggaaatt tgtaacctca gctctgggag aggatttttt tctgagcgat tattatctaa 3040
agtgtgttgt tgctttaggc tcacggcacg cttgcgtatg tctgttacca tgtcactgtg 3100
gtcctatgcc gaatgccctc aggggacttg aatctttcca ataaaccagg tttagacagt 3160
atgagtcaat gtgcagtga gccacactt gagaggatga atgtatgtc actgtcactt 3220
tgctctgggt ggaagtacgt tattgttgac ttattttctc tgtgtttgtt cctacagccc 3280
ctttttcata tgttgctcag tctccctttc ctttcttggt gcttacacat ctgaccct 3340
ttagccaaac cttgtcagt gacagtattt tggttcttag ttctcactgt tccctctgct 3400
cctggagcct ttgaataaaa atgcacgtag ctgaggccgg atgcggtggc tcacgcctgt 3460
aatcccagca ctttgggagg cctaggcggg cggtcagggg ttcgagacca gtctggccaa 3520
catcgtgaaa ccctgtctct actaaaaatg caaaaattag ccgggcgtgg tggcgggcgc 3580
ctgtaatccc agctacttgg gaagctgagg cgggagaatc atgtgaacct gggacgcagg 3640

ggttgcagtg agcggagatc gcatcattgc actctagcct gggccacagg gcgagactcc 3700
 gtctcaaaaa aaaaaaatg cacatagcta tcgagtgtgc tttagcttga aaaggtgacc 3760
 ttgcaacttc atgtcaactt tctggctcct caaacagtag gttggcagta aggcagggtc 3820
 ccatttctca ctgagaagat tgtgaatatt tccatatgga ttttctattg ttactctggt 3880
 tctttgtttt aaaataaaaa ttctgaatgt acacg 3915

<210> 22
 <211> 496
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 22

Met Gly Thr Gln Lys Val Thr Pro Ala Leu Ile Phe Ala Ile Thr Val
 1 5 10 15

Ala Thr Ile Gly Ser Phe Gln Phe Gly Tyr Asn Thr Gly Val Ile Asn
 20 25 30

Ala Pro Glu Lys Ile Ile Lys Glu Phe Ile Asn Lys Thr Leu Thr Asp
 35 40 45

Lys Gly Asn Ala Pro Pro Ser Glu Val Leu Leu Thr Ser Leu Trp Ser
 50 55 60

Leu Ser Val Ala Ile Phe Ser Val Gly Gly Met Ile Gly Ser Phe Ser
 65 70 75 80

Val Gly Leu Phe Val Asn Arg Phe Gly Arg Arg Asn Ser Met Leu Ile
 85 90 95

Val Asn Leu Leu Ala Val Thr Gly Gly Cys Phe Met Gly Leu Cys Lys
 100 105 110

Val Ala Lys Ser Val Glu Met Leu Ile Leu Gly Arg Leu Val Ile Gly
 115 120 125

Leu Phe Cys Gly Leu Cys Thr Gly Phe Val Pro Met Tyr Ile Gly Glu
130 135 140

Ile Ser Pro Thr Ala Leu Arg Gly Ala Phe Gly Thr Leu Asn Gln Leu
145 150 155 160

Gly Ile Val Val Gly Ile Leu Val Ala Gln Ile Phe Gly Leu Glu Phe
165 170 175

Ile Leu Gly Ser Glu Glu Leu Trp Pro Leu Leu Leu Gly Phe Thr Ile
180 185 190

Leu Pro Ala Ile Leu Gln Ser Ala Ala Leu Pro Phe Cys Pro Glu Ser
195 200 205

Pro Arg Phe Leu Leu Ile Asn Arg Lys Glu Glu Glu Asn Ala Lys Gln
210 215 220

Ile Leu Gln Arg Leu Trp Gly Thr Gln Asp Val Ser Gln Asp Ile Gln
225 230 235 240

Glu Met Lys Asp Glu Ser Ala Arg Met Ser Gln Glu Lys Gln Val Thr
245 250 255

Val Leu Glu Leu Phe Arg Val Ser Ser Tyr Arg Gln Pro Ile Ile Ile
260 265 270

Ser Ile Val Leu Gln Leu Ser Gln Gln Leu Ser Gly Ile Asn Ala Val
275 280 285

Phe Tyr Tyr Ser Thr Gly Ile Phe Lys Asp Ala Gly Val Gln Glu Pro
290 295 300

Ile Tyr Ala Thr Ile Gly Ala Gly Val Val Asn Thr Ile Phe Thr Val
305 310 315 320

Val Ser Leu Phe Leu Val Glu Arg Ala Gly Arg Arg Thr Leu His Met
325 330 335

Ile Gly Leu Gly Gly Met Ala Phe Cys Ser Thr Leu Met Thr Val Ser
340 345 350

Leu Leu Leu Lys Asp Asn Tyr Asn Gly Met Ser Phe Val Cys Ile Gly
355 360 365

Ala Ile Leu Val Phe Val Ala Phe Phe Glu Ile Gly Pro Gly Pro Ile
370 375 380

Pro Trp Phe Ile Val Ala Glu Leu Phe Ser Gln Gly Pro Arg Pro Ala
385 390 395 400

Ala Met Ala Val Ala Gly Cys Ser Asn Trp Thr Ser Asn Phe Leu Val
405 410 415

Gly Leu Leu Phe Pro Ser Ala Ala His Tyr Leu Gly Ala Tyr Val Phe
420 425 430

Ile Ile Phe Thr Gly Phe Leu Ile Thr Phe Leu Ala Phe Thr Phe Phe
435 440 445

Lys Val Pro Glu Thr Arg Gly Arg Thr Phe Glu Asp Ile Thr Arg Ala
450 455 460

Phe Glu Gly Gln Ala His Gly Ala Asp Arg Ser Gly Lys Asp Gly Val
465 470 475 480

Met Glu Met Asn Ser Ile Glu Pro Ala Lys Glu Thr Thr Thr Asn Val
485 490 495

<210> 23

<211> 1085

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (76)..(678)

<400> 23

```

atcctgtctg tccgaacca gacacaagtc ttcactcctt cctgcgagcc ctgaggaagc      60

cttctttccc cagac atg gcc aac aag ggt cct tcc tat ggc atg agc cgc      111
      Met Ala Asn Lys Gly Pro Ser Tyr Gly Met Ser Arg
              1              5              10

gaa gtg cag tcc aaa atc gag aag aag tat gac gag gag ctg gag gag      159
Glu Val Gln Ser Lys Ile Glu Lys Lys Tyr Asp Glu Glu Leu Glu Glu
      15              20              25

cgg ctg gtg gag tgg atc ata gtg cag tgt ggc cct gat gtg ggc cgc      207
Arg Leu Val Glu Trp Ile Ile Val Gln Cys Gly Pro Asp Val Gly Arg
      30              35              40

cca gac cgt ggg ccc ttg ggc ttc cag gtg tgg ctg aag aat ggc gtg      255
Pro Asp Arg Gly Pro Leu Gly Phe Gln Val Trp Leu Lys Asn Gly Val
      45              50              55              60

att ctg agc aag ctg gtg aac agc ctg tac cct gat ggc tcc aag ccg      303
Ile Leu Ser Lys Leu Val Asn Ser Leu Tyr Pro Asp Gly Ser Lys Pro
      65              70              75

gtg aag gtg ccc gag aac cca ccc tcc atg gtc ttc aag cag atg gag      351
Val Lys Val Pro Glu Asn Pro Pro Ser Met Val Phe Lys Gln Met Glu
      80              85              90

cag gtg gct cag ttc ctg aag gcg gct gag gac tct ggg gtc atc aag      399
Gln Val Ala Gln Phe Leu Lys Ala Ala Glu Asp Ser Gly Val Ile Lys
      95              100              105

act gac atg ttc cag act gtt gac ctc ttt gaa ggc aaa gac atg gca      447
Thr Asp Met Phe Gln Thr Val Asp Leu Phe Glu Gly Lys Asp Met Ala
      110              115              120

gca gtg cag agg acc ctg atg gct ttg ggc agc ttg gca gtg acc aag      495
Ala Val Gln Arg Thr Leu Met Ala Leu Gly Ser Leu Ala Val Thr Lys
      125              130              135              140

aat gat ggg cac tac cgt gga gat ccc aac tgg ttt atg aag aaa gcg      543
Asn Asp Gly His Tyr Arg Gly Asp Pro Asn Trp Phe Met Lys Lys Ala
      145              150              155

cag gag cat aag agg gaa ttc aca gag agc cag ctg cag gag gga aag      591
Gln Glu His Lys Arg Glu Phe Thr Glu Ser Gln Leu Gln Glu Gly Lys
      160              165              170

cat gtc att ggc ctt cag atg ggc agc aac aga ggg gcc tcc cag gcc      639

```


His Val Ile Gly Leu Gln Met Gly Ser Asn Arg Gly Ala Ser Gln Ala
 175 180 185

ggc atg aca ggc tac gga cga cct cgg cag atc atc agt tagagcggag 688
 Gly Met Thr Gly Tyr Gly Arg Pro Arg Gln Ile Ile Ser
 190 195 200

agggctagcc ctgagcccgg cgctccccca gtccttggc tgcagccatc ccgcttagcc 748

tgctcaccc acaccgtgt ggtaccttca gccctggcca agctttgagg ctctgtcact 808

gagcaatggt aactgcacct gggcagctcc tccctgtgcc ccagcctca gccaacttc 868

ttaccgaaa gcatcactgc ctgggccct ccctccggc ggcccccatc acctctactg 928

tctcctccct gggctaagca ggggagaagc gggctggggg tagcctggat gtgggcgaag 988

tccactgtcc tccttggcgg caaaagccca ttgaagaaga accagcccag cctgccccct 1048

atcttgtacc tggaatattt ttggggttgg aactctc 1085

<210> 24

<211> 201

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Met Ala Asn Lys Gly Pro Ser Tyr Gly Met Ser Arg Glu Val Gln Ser
 1 5 10 15

Lys Ile Glu Lys Lys Tyr Asp Glu Glu Leu Glu Glu Arg Leu Val Glu
 20 25 30

Trp Ile Ile Val Gln Cys Gly Pro Asp Val Gly Arg Pro Asp Arg Gly
 35 40 45

Pro Leu Gly Phe Gln Val Trp Leu Lys Asn Gly Val Ile Leu Ser Lys
 50 55 60

Leu Val Asn Ser Leu Tyr Pro Asp Gly Ser Lys Pro Val Lys Val Pro
 65 70 75 80

Glu Asn Pro Pro Ser Met Val Phe Lys Gln Met Glu Gln Val Ala Gln

85

90

95

Phe Leu Lys Ala Ala Glu Asp Ser Gly Val Ile Lys Thr Asp Met Phe
100 105 110

Gln Thr Val Asp Leu Phe Glu Gly Lys Asp Met Ala Ala Val Gln Arg
115 120 125

Thr Leu Met Ala Leu Gly Ser Leu Ala Val Thr Lys Asn Asp Gly His
130 135 140

Tyr Arg Gly Asp Pro Asn Trp Phe Met Lys Lys Ala Gln Glu His Lys
145 150 155 160

Arg Glu Phe Thr Glu Ser Gln Leu Gln Glu Gly Lys His Val Ile Gly
165 170 175

Leu Gln Met Gly Ser Asn Arg Gly Ala Ser Gln Ala Gly Met Thr Gly
180 185 190

Tyr Gly Arg Pro Arg Gln Ile Ile Ser
195 200

<210> 25
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying kiaal001
gene transcript.

<400> 25
ggaacatctc tttgaattgt atttcttgta

30

<210> 26
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying kiaal001 gene transcript.

<400> 26

agccacagcc aaaaaagact tt

22

<210> 27

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting amplification of kiaal001 gene transcript.

<400> 27

ttacatactt agagagagac tcttttagcc ag

32

<210> 28

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying asahl gene transcript.

<400> 28

accctaagga agttgctaac ttaaaaaa

28

<210> 29

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying asahl gene transcript.

<400> 29

tccacaagtc tttgacttgt ttatttact

29

<210> 30

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting amplification of asahl gene transcript.

<400> 30

ctgcatccca cgttctgtta att

23

<210> 31

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying mgc4171 gene transcript.

<400> 31

caggtggtct tttggtgcct ta

22

<210> 32

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying mgc4171 gene transcript.

<400> 32

agtggctccc acgctgaa

18

<210> 33

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting amplification of mgc4171 gene transcript.

<400> 33

tgaagagtcg gatatttgaag cagc

24

<210> 34

<211> 24

<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying lss gene transcript.

<400> 34

gtccggtgtc tacttgagaa acag

24

<210> 35

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying lss gene transcript.

<400> 35

agaccccagc aatgttttcc t

21

<210> 36

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting amplification of lss gene transcript.

<400> 36

cccaatggcg actggccg

18

<210> 37

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying nr0b2 gene transcript.

<400> 37

cagcacttgg ctccttagga a

21

<210> 38
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying nr0b2 gene transcript.

<400> 38

actgtgtcca aaccaaggaa gtc

23

<210> 39
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting amplification of nr0b2 gene transcript.

<400> 39

agctcttcac tcagccacac ccc

23

<210> 40
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying fabp1 gene transcript.

<400> 40

gagtttctcc ggcaagtacc aa

22

<210> 41
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying fabp1 gene transcript.

<400> 41

cagaccgatt gccttcata

20

<210> 42
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting
amplification of fabpl gene transcript.

<400> 42
tgcagagcca ggaaaacttt gaagc 25

<210> 43
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying hpn
gene transcript.

<400> 43
gaaaccagat caagcccaag at 22

<210> 44
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying hpn
gene transcript.

<400> 44
ccctggcagg catcaatg 18

<210> 45
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting
amplification of hpn gene transcript.

<400> 45
ttctgtgctg gctaccccga

20

<210> 46
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying serpina3 gene transcript.

<400> 46
gaggagggca cagaagcatc t

21

<210> 47
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying serpina3 gene transcript.

<400> 47
ccttgtctcc actaatgcag aaag

24

<210> 48
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting amplification of serpina3 gene transcript.

<400> 48
tgccacagca gtcaaaatca ccct

24

<210> 49
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying depp

gene transcript.

<400> 49

tgtggtggca ttgggagagt

20

<210> 50

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying depp gene transcript.

<400> 50

tggtagcact gagtgtaca gattc

25

<210> 51

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting amplification of depp gene transcript.

<400> 51

cccccatgat gagggccaag at

22

<210> 52

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying flj22362 gene transcript.

<400> 52

ggtaatgcca ctcccacaat ct

22

<210> 53

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying flj22362 gene transcript.

<400> 53

ccttctggct ctgctcacag t

21

<210> 54

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting amplification of flj22362 gene transcript.

<400> 54

aggcctggta cccatcctct ttc

23

<210> 55

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying slc2a3 gene transcript.

<400> 55

gcttgaaaag gtgaccttgc a

21

<210> 56

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying slc2a3 gene transcript.

<400> 56

tgccttactg ccaacctact gtt

23

<210> 57

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting amplification of slc2a3 gene transcript.

<400> 57

tcatgtcaac tttctggctc ctc

23

<210> 58

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying tagln gene transcript.

<400> 58

gagcataaga gggaattcac agaga

25

<210> 59

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying tagln gene transcript.

<400> 59

ctgttgctgc ccatctgaag

20

<210> 60

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting amplification of tagln gene transcript.

<400> 60

agctgcagga gggaaagcat gtcattg

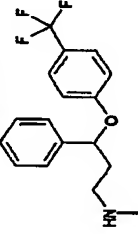
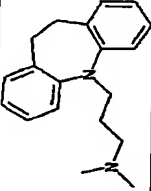
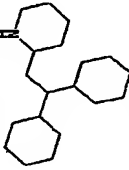
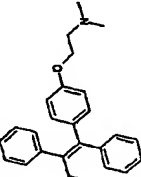
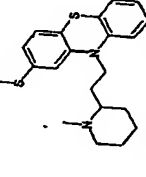
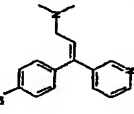
27

【書類名】 図面

【図 1】

化合物名	構造式	分子量	薬効	添加濃度($\mu\text{mol/L}$)
アミオダロン		681.8	抗不整脈薬	8.3
アミトリプチリン		313.9	抗うつ薬	25
AY-9944		464.3	高脂血症	8.3
クロルシケリジン		337.3	抗ヒスタミン薬	25
クロルプロマジン		355.3	抗不安薬	8.3
クロミプラミン		351.3	抗うつ薬	8.3

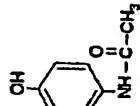
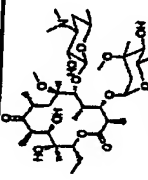
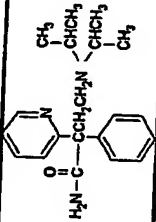
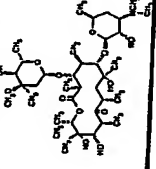
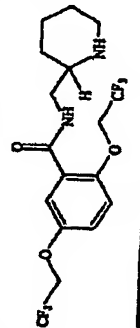
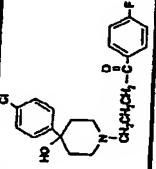
【図2】

化合物名	構造式	分子量	薬効	添加濃度($\mu\text{mol/L}$)
フルオキセチン		345.8	抗うつ薬	8.3
イミプラミン		316.9	抗うつ薬	25
ペルヘキシリン		393.6	抗狭心症薬	8.3
タモキシフェン		563.7	抗エストロゲン薬	8.3
チオリダジン		407	抗不安薬	8.3
ジメリジン		390.2	抗うつ薬	25

【図 3】

化合物名	構造式	分子量	薬効	添加濃度($\mu\text{mol/L}$)
クロザピン		326.8	抗精神病薬	25
ケトコナゾール		531.4	抗真菌剤	8.3
ロラタジン		382.89	抗ヒスタミン薬	8.3
ペンタミジン		340.4	抗感染症薬	8.3
セルトラリン		342.7	抗うつ薬	8.3

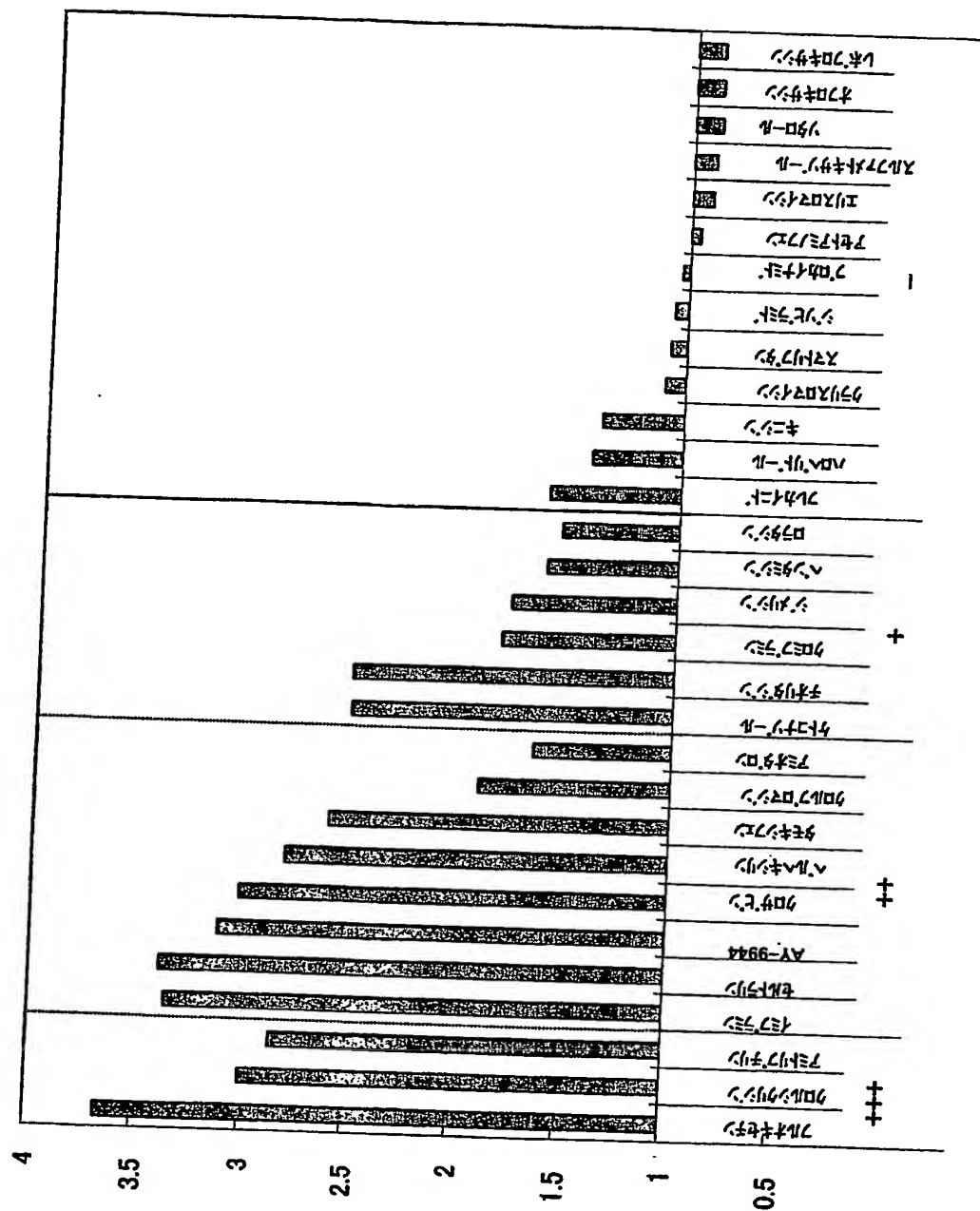
【図 4】

化合物名	構造式	分子量	薬効	添加濃度($\mu\text{mol/L}$)
アセトアミノフェン		515.9	解熱鎮痛剤	25
クラリスロマイシン		748	抗生物質	25
ジソピラミド		339.48	抗不整脈薬	25
エリスロマイシン		733.94	抗生物質	25
フレカイニド		474.4	抗不整脈薬	25
ハロペリドール		375.86	抗精神病薬	8.3

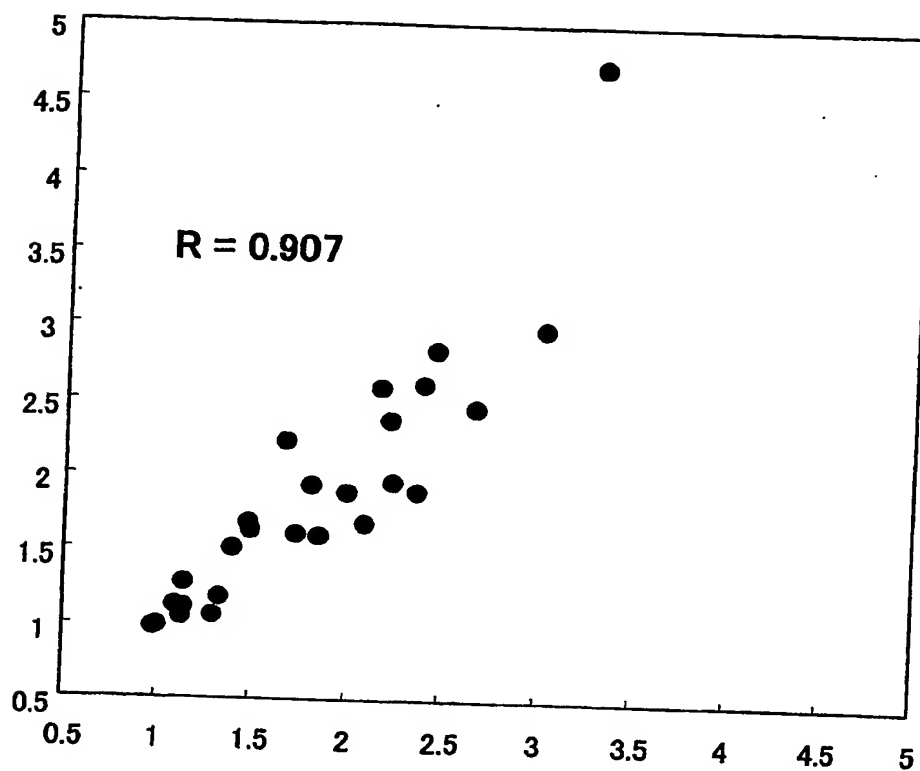
【図 5】

化合物名	構造式	分子量	薬効	添加濃度($\mu\text{mol/L}$)
レボフロキサシン		370.4	抗生物質	25
オフロキサシン		361.4	抗生物質	25
プロカイナミド		271.8	抗不整脈薬	25
キニジン		324.42	抗不整脈薬	25
ソタロール		308.8	抗不整脈薬	25
スルファメトキサゾール		253.3	抗感染症薬	25
スマトリブタン		413.5	偏頭痛薬	25

【図 6】



【図 7】



【書類名】要約書

【要約】

【課題】新規薬物起因性リン脂質症マーカー遺伝子および薬物のリン脂質症誘発ポテンシャルの新規インビトロ予測系の提供。

【解決手段】配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 または 23 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子の発現を検出し得る核酸を含有する、化合物のリン脂質症誘発ポテンシャルの予測用試薬。試験化合物に曝露した哺乳動物細胞における、リン脂質症の発現と相関して発現が変動する 1 以上の遺伝子の発現を検出することを含む、化合物のリン脂質症誘発ポテンシャルの予測方法。

【選択図】なし

特願 2003-397551

ページ: 1/E

出願人履歴情報

識別番号

[000002934]

1. 変更年月日
[変更理由]

住所
氏名

1992年 1月22日

住所変更

大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
武田薬品工業株式会社

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP04/017995

International filing date: 26 November 2004 (26.11.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2003-397551
Filing date: 27 November 2003 (27.11.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 24 February 2005 (24.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☒ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.